GREENING DOS CITRUS: COMPARAÇÃO DOS COMPOSTOS MAJORITÁRIOS DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Murraya paniculata* E *Citrus sinensis,* HOSPEDEIRAS DO INSETO VETOR *Diaphorina citri*.

Thaís Cordeiro Sathler Sperandio[1], Isabella da Costa Teixeira[1], Natalia da Silva Venial[2], Aldino Neto Venancio[1], Luciano Menini[1], Luciana Alves Parreira[2]

[1]Instituto Federal do Espírito Santo - campus de Alegre, Rodovia ES 482 (Cachoeiro-Alegre) km 47, 29520-000 - Rive, Alegre – ES, Brasil, thaisathler0394@gmail.com, isabellacteixeiraa@gmail.com, natalia.venial@edu.ufes.br, aldinovenancio@gmail.com, lmenini@ifes.edu.br

[2]Universidade Federal do Espírito Santo/Departamento de Química e Física, Alto Universitário s/n, Guararema, 29500-000, Alegre-ES, Brasil, priscila.bento@edu.ufes.br, luciana.parreira@ufes.br.

Resumo

O *huanglongbing* (HLB), conhecido como greening dos citros, constitui uma das principais doenças da citricultura, sendo associado às bactérias *Candidatus* Liberibacter spp. e transmitido principalmente pelo psilídeo *Diaphorina citri*. Considerando a importância das plantas hospedeiras na manutenção e disseminação do vetor, este estudo teve como objetivo comparar a composição química dos óleos essenciais das folhas de *Murraya paniculata* e *Citrus sinensis*, buscando identificar compostos majoritários de interesse na interação com *D. citri*. Os óleos essenciais foram obtidos por hidrodestilação em aparelho de Clevenger e analisados por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID) e cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS). Os resultados demonstraram diferenças expressivas na composição química dos óleos essenciais das duas espécies. Em *M. paniculata*, os principais compostos identificados foram (E)-cariofileno (53,21%), α-zingibereno (31,69%) e α-humuleno (7,48%), enquanto em *C. sinensis* destacaram-se o sabineno (41,29%), δ-3-careno (11,06%), β-(E)-ocimeno (9,60%) e limoneno (6,20%). O óleo essencial de *C. sinensis* apresentou predominância de monoterpenos, enquanto o de *M. paniculata* foi constituído principalmente por sesquiterpenos. Os resultados evidenciam a elevada diversidade química dos óleos essenciais das espécies estudadas e destacam o (E)-cariofileno como composto de interesse para futuras investigações relacionadas ao manejo de *D. citri* e do HLB.

Palavras-chave: Citricultura; fitoquímica; metabólitos secundários; cromatografia gasosa; defesa vegetal.

Introdução

A produção de citros, que inclui laranjas, limões, tangerinas e outras frutas cítricas, retrata uma parte significativa da indústria agrícola e movimenta bilhões de dólares anualmente, representando uma atividade de destaque para o agronegócio brasileiro (Neves *et al.* 2010).

O crescimento exponencial da citricultura brasileira trouxe também os desafios das pragas e doenças que, quando não controladas, podem resultar na inviabilidade econômica dos pomares (Gravena, 2005; Neves *et al*., 2010). O *huanglongbing* (HLB) é hoje a doença mais séria dos citros por ter uma ação destrutiva e por não ter uma cura conhecida, exceto a prevenção das plantas à infecção (Bové, 2006). Os agentes associados à doença no Brasil são as bactérias *Candidatus* Liberibacter americanus e *Candidatus* Liberibacter asiaticus, tendo como vetor o psilídeo *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Liviidae) (Figura 1) (Lopes *et al*., 2011; Bové, 2006). Essas bactérias habitam o interior dos vasos do floema, portanto são intracelulares, causando expressivos distúrbios no metabolismo de seus hospedeiros (Machado, *et al*, 2010).

Muitas espécies pertencentes à família Rutaceae, à qual pertence o gênero Citrus, podem estar hospedando as bactérias e seus vetores. Por ocorrerem espontaneamente em florestas próximas a pomares comerciais de citros, podem estar atuando como reservatórios do patógeno e vetor e contribuindo para a disseminação da doença. Na literatura, a falsa-murta (*Murraya paniculata*) e “curry leaf” (Bergera koenigii) já são descritas como hospedeiras preferidas de *D. citri* (Moo, *et al.* 2020).

As plantas de modo geral produzem uma grande diversidade de produtos químicos que podem ser classificados como metabólitos primários e secundários. Os metabólitos primários são aqueles compostos que todas as plantas produzem e que estão diretamente envolvidos no crescimento e desenvolvimento (García; Carril, 2009). Os metabólitos secundários, ao contrário, são altamente específicos e desempenham um papel importante na evolução dos vegetais e na interação com os seres vivos. Em geral, pertencem a uma das três principais classes de moléculas: terpenos, compostos fenólicos e nitrogenados. Esses compostos geralmente estão relacionados com a proteção dos vegetais a estresses bióticos e abióticos além de serem comercialmente utilizados pelas indústrias biofarmacêutica, de corantes e aromas (Raskin et al., 2002). Conhecer o potencial dessas espécies em atrair, reproduzir ou simplesmente servir de fonte de alimento de *D. citri,* ou ainda em multiplicar Liberibacters é importante para o controle do HLB nos pomares (Moo, *et al.* 2020). Esta pesquisa visa analisar a semelhança na composição química dos óleos essenciais das plantas hospedeiras de *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera:Liviidae) que justifiquem a atração desse inseto por essas plantas.

Figura 1- Inseto adulto de *Diaphorina citri*



Fonte: Sperandio *et al.* (2024)

Metodologia

Coleta do material vegetal e extração dos óleos essenciais

Folhas de Citrus sinensis (L.) Osbeck e Murraya paniculata foram coletadas no sul do estado do Espírito Santo, no município de Jerônimo Monteiro, nas coordenadas geográficas 20°46'27"S, 41°24'58"W e 20°46'51"S, 41°23'19"W, respectivamente. As folhas foram secas e trituradas. Para a obtenção dos OEs, 60 g de material vegetal seco e triturado de cada espécie foram submetidos à hidrodestilação em aparelho tipo Clevenger durante 4 h, 3 repetições cada. O procedimento foi realizado conforme metodologia empregada por Batista et al. (2023), com as adaptações adotadas no presente estudo.

Análise cromatográfica e identificação dos compostos

As amostras dos OEs foram analisadas por cromatografia gasosa com detector de ionização de chama (GC/FID), utilizando equipamento Shimadzu GC-2010 Plus, e por cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC/MS), utilizando equipamento Shimadzu QPMS-2010, conforme metodologia adaptada de Bravim dos Santos et al. (2021).

A identificação dos constituintes foi baseada nos dados de tempo de retenção, índices de retenção calculados e índices de retenção de referência apresentados na Tabela 1, associados aos dados obtidos por GC/MS.

Os compostos com área relativa superior a 1% foram considerados na Tabela 1. Como o estudo apresenta caracterização química descritiva, os resultados são apresentados como percentual de área relativa dos picos cromatográficos.

Resultados

Foram extraídos os óleos essenciais das folhas das espécies *M. paniculata* e *C. sinensis* e os compostos constituintes dos óleos essenciais extraídos com porcentagem em área relativa maior que 1% constam na tabela 1.

Tabela 1. Composição química do óleo essencial de *C. sinensis* e *M. paniculata*.

Nº.	TR	IR_{cal}[a]	IR_{tab}[b]	Nome	Área %[c]	
					Laranja	Murta
1	8,715	927	932	α-pineno	2,11	-
2	10,438	968	969	Sabineno	41,29	-
3	11,178	985	988	β-mirceno	4,92	-
4	11,986	1004	1008	δ-3-careno	11,06	-
5	12,2	1009	1014	α-terpineno	1,07	-
6	12,765	1021	1024	Limoneno	6,20	-
7	13,759	1042	1044	β-(*E*)-ocimeno	9,60	-
8	14,12	1050	1054	γ-terpineno	1,98	-
9	15,453	1079	1086	α-terpioleno	2,50	-
10	16,023	1091	1095	Linalol	3,85	-
11	18,292	1141	1148	Citronelal	3,28	-
12	19,443	1165	1174	terpinene-4-ol	3,22	-
13	22,224	1226	1235	Neral	2,10	-
14	23,581	1257	1264	geranial	2,35	-
15	29,059	1382	1389	β-elemeno	1,84	-
16	30,458	1416	1417	(*E*)-cariofileno	-	53,21
17	31,618	1445	1452	α-humuleno	-	7,48
18	32,711	1472	1479	α-curcumeno	-	1,68
19	33,525	1492	1493	α-zingibereno	-	31,69
20	33,614	1494	-	N.i.[d]	1,46	-
21	34,44	1515	1521	β-sesquifeladreno	-	3,93
22	40,697	1682	1699	β-sinensal	1,06	-
23	54,253	2099	-	N.i.[d]	-	2,01

Discussão

Caracterização dos óleos essenciais

A composição dos óleos essenciais extraídos das duas espécies é completamente diferente entre si, não havendo nenhum composto coincidente entre as duas. O OE das folhas de *C. sinensis* contém majoritariamente compostos monoterpênicos (cerca de 97,5%), com dez átomos de carbono, enquanto o OE das folhas de *M. paniculata* contém apenas compostos sesquiterpênicos, com quinze átomos de carbono.

O OE das folhas de *M. paniculata* obteve como compostos principais o (E)-cariofileno (53,21%), α-zingibereno (31,69) e α-humuleno (7,48%). Ao comparar com os óleos encontrados na literatura descritos na tabela 1, Selestino Neta *et al* (2017) encontrou β-cariofileno (57,57%), zingibereno (31,72%) e α-cariofileno (3,58%). Já Dosoky *et al*. (2016) obteve β-cariofileno (4-45%), espatulenol (0,1-25,6%). Observou-se que o cariofileno compõe boa parte da composição dos óleos. Lopes *et al*. (2010) destaca que *M. paniculata* não favorece a multiplicação de Liberibacters como nos citrus, por apresentar títulos bacterianos baixos, tornando-se imperceptível com o tempo.

Já no OE das folhas de *C. sinensis*, o sabineno (41,29%), δ-3-careno (11,06%), β-(E)-ocimeno (9,60%) e limoneno (6,20%) foram os compostos com os maiores percentuais em área relativa. Hamdan *et al.* (2024) em um estudo, também obtiveram o sabineno como composto majoritário no óleo extraído. Já Gurib-Fakim *et al*. (1995) e Sá *et al.* (2012) encontraram Cispiperitol (26.4%) e Geranial (31,42%) respectivamente. Enquanto Martins *et al*. (2017) obtiveram D-limoneno (83,33%) e linalol (8,91%) como compostos majoritários. Sabe-se que a composição dos OE podem variar de acordo com os fatores bióticos,e abióticos, ou seja, predadores, fungos, bactérias, solo, ar, água, clima, horário de colheita, forma de extração, etc (Pacheco *et al*, 2020).

Compostos com possível atratividade e repelência ao Psilídio

Dentro da classificação de inseticidas, são incluídas substâncias que repelem e que atraem insetos (Jyotsna *et al.*, 2024). O β-cariofileno, um sesquiterpeno presente em diversos óleos essenciais, apresenta atividade antibacteriana descrita na literatura e é considerado um composto com potencial inseticida (Legault; Pichette, 2007). Em plantas cítricas infectadas por *Candidatus* Liberibacter asiaticus, foi observado aumento na emissão desse composto, sugerindo que o β-cariofileno possa estar relacionado às respostas químicas da planta à infecção. Entretanto, ainda são necessários estudos específicos para determinar seu efeito direto sobre *C.* Liberibacter (Moo *et al.* 2020). Um estudo realizado por Legault e Pichette (2007), verificaram que a presença elevada de α-humuleno, aumentou a atividade anti-inflamatória, analgésica do β-cariofileno, observaram que a ação sinérgica dessas duas moléculas, atuam muito melhor juntas do que separadas. Visto que α-humuleno (α-cariofileno) é isômero do β-cariofileno.

A ocorrência de (E)-cariofileno em elevada proporção no óleo de *M. paniculata* é relevante para estudos de ecologia química de *D. citri*. Alquézar et al. (2021) demonstraram que plantas de laranja modificadas para emitir (E)-β-cariofileno apresentaram menor atratividade ao psilídeo em ensaios comportamentais. Mais recentemente, experimentos com compostos isolados também demonstraram efeito repelente do β-cariofileno sobre D. citri (Li *et al.*, 2024). Esses resultados sustentam a necessidade de investigar experimentalmente a relação entre a elevada proporção de (E)-cariofileno observada em M. paniculata e o comportamento do vetor.

Diante disso, podem ser levantadas outras espécies da família Rutaceae com esse composto e a verificação do desenvolvimento da doença nas mesmas. As pesquisas realizadas mostram que um dos caminhos para o uso dos óleos essenciais e seus derivados para inibição do *D. citri* pode partir de cultivares de plantas que produzem o β-cariofileno como composto majoritário (Jyotsna *et al*., 2024).

O Limoneno nos citrus se apresentam em maior quantidade quando o óleo essencial é extraído das cascas dos frutos, quando essa extração é feita a partir das folhas os compostos majoritários mudam drasticamente. No óleo extraído de *C. sinensis*, neste trabalho, pode-se observar que o limoneno está presente em uma porcentagem relativamente baixa (6,20%), enquanto o sabineno foi o composto majoritário (41,29%). Este composto é um monoterpeno bicíclico encontrado por exemplo no óleo essencial da planta da pimenta preta, espécie que apresenta ação analgésica, anti-inflamatória e expectorante (Qian, 2025).

Os citros possuem em sua composição diversos compostos com potencial inseticida como, α-pineno (Fazolin *et al* 2015), linalol , β-mirceno (Niculau *et al* 2013) incluindo o limoneno. Mas são altamente

susceptíveis ao inseto vetor e o desenvolvimento da doença.

Entre os produtos de origem vegetal empregados no manejo de insetos, encontram-se substâncias capazes de provocar diferentes respostas comportamentais, incluindo atração, repelência e deterrência alimentar, além de efeitos inseticidas propriamente ditos (Mishra *et al*., 2021; Jyotsna *et al.,* 2024).

Conclusão

Os óleos essenciais obtidos das folhas de Murraya paniculata e Citrus sinensis apresentaram perfis químicos distintos. Em M. paniculata, os principais constituintes foram (E)-cariofileno (53,21%), α-zingibereno (31,69%) e α-humuleno (7,48%), enquanto em C. sinensis destacaram-se sabineno (41,29%), δ-3-careno (11,06%), β-(E)-ocimeno (9,60%) e limoneno (6,20%). Os resultados confirmam a diferença na composição dos OEs das duas espécies e destacam o (E)-cariofileno como composto de interesse para estudos de ecologia química envolvendo D. citri.

Contudo, os dados obtidos são exclusivamente de caracterização química e não permitem concluir que os OEs ou seus constituintes sejam atrativos, repelentes ou inseticidas para D. citri, nem que inibam Candidatus Liberibacter. Estudos futuros deverão associar a caracterização química a bioensaios comportamentais e de toxicidade, preferencialmente com compostos isolados e com os OEs completos, para testar essas hipóteses.

Referências

BATISTA, R. S.; COSTA, H.; PARREIRA, L. A.; BERNARDES, C. de O.; ABREU, K. M. P. de; MENINI, L. Essential oil of Piper macedoi Yunck. leaves, potential alternative for the management of banana anthracnose disease. **Journal of Natural Pesticide Research**, v. 5, p. 100039, 2023.

BOVÉ, J.M. **Huanglongbing: a destructive, newly-emerging, century-old disease of citrus.** Journal of Plant Pathology. California. V. 88 p. 7-37. 2006.

BRAVIM dos S, A. T.; ZANUNCIO J. J. S.; PARREIRA, L. A.; PEDRA A., K. M.; DE OLIVEIRA B., C.; ROMÁRIO de C., J.; MENINI, L. Chemical identification and insecticidal effect of Tephrosia vogelii essential oil against Cerosipha forbesi in strawberry crop. **Crop Protection**, v. 139, p. 105405, 2021.

DOSOKY, N. S. et al. Composition and biological activities of Murraya paniculata (L.) Jack essential oil from Nepal. **Medicines**, v. 3, n. 1, p. 7, 2016.

FAZOLIN, M. *et al*. Pimenta-de-macaco: a bioprospecção na Amazônia descobrindo um novo inseticida botânico. **Revista de Agropecuária da Embrapa Amazônia Oriental.** v. 1, p 2-13, 2015.

FUNDO DE DEFESA DA CITRICULTURA – FUNDECITRUS. 2022. **Levantamento da incidência das doenças dos citros, Greening, CVC e Cancro Cítrico no cinturão citrícola de São Paulo e Triângulo/ Sudoeste Mineiro**. Disponível em <https://www.fundecitrus. com.br/levantamentos> acesso e 20, out. 2023.

GURIB-FAKIM, A.; DEMARNE, F. Aromatic plants of Mauritius: Volatile constituents of the leaf oils of Citrus aurantium L., Citrus paradisi Macfad and Citrus sinensis (L.) Osbeck. **Journal of Essential Oil Research**, v. 7, n. 1, p. 105-109, 1995.

GRAVENA, S. Manual prático de manejo ecológico de pragas dos citros. Jaboticabal: **Editora Gravena**. São Paulo. 372p. 2005.

GARCÍA, A. Á.; CARRIL, E. P-U. Metabolismo secundário de plantas. **Reduca (biología),** v. 2, n. 3, p. 119-145, 2009.

HAMDAN, M. et al. Chemical composition, cytotoxic effects and antimicrobial activity of combined essential oils from Citrus meyeri, Citrus paradise, and Citrus sinensis leaves. **Industrial Crops and Products,** v. 210, p. 118096, 2024.

JYOTSNA, B.; PATIL, S.; PRAKASH, Y. S.; RATHNAGIRI, P.; KAVI KISHOR, P. B.; JALAJA, N. Essential oils from plant resources as potent insecticides and repellents: Current status and future perspectives. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, 2024.

LOPES, J. M. S. et al. Importância econômica dos citros no Brasil. **Revista Científica Eletrônica de Agronomia**, Garça. v. 20, 2011.

LEGAULT J.; PICHETTE, A.Potentiating effect of β-Cariofileno on anticancer activity of α-Humuleno isocaryophyllene and paclitaxel. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**. v. 59, n. 12, p. 1643-1647, 2007.

MACHADO A. M., LOCALI-FABRIS E. C. & COLETTA-FILHO H. D. Candidatus Liberibacter spp., agentes do huanglongbing dos citros. **Citrus Research & Technology. Cordeirópolis. São Paulo**. v.31. n.1. p.25-35. 2010.

MARANGONI, C.; MOURA, N.F. de; GARCIA, F.R.M. Utilização de óleos essenciais e extratos de plantas no controle de insetos. **Revista de Ciências Ambientais.** v.6. n.2. p. 95-112. 2012.

MARTINS, G. dos S. O. *et al.* Chemical composition and toxicity of Citrus essential oils on Dysmicoccus brevipes (Hemiptera: Pseudococcidae). **Revista Caatinga**, v. 30, n. 3, p. 811-817, 2017.

MISHRA, M. *et al*. Plant-Derived Pesticides as an Alternative to Pest Management and Sustainable Agricultural Production: Prospects, Applications and Challenges. **Molecules**, v. 26, n. 16, p. 4835, 2021.

MOO, C. L. *et al.* Antibacterial activity and mode of action of β-caryophyllene on Bacillus cereus. Polish Journal of Microbiology, v. 69, n. 1, p. 49–54, 2020.

MORAIS, L. A. S.; MARINHO-PRADO, J. S. Plantas com Atividade Inseticida. In: HALFELD-VIEIRA, B. D. A. et al. (ed.). **Defensivos agrícolas naturais: uso e perspectivas**. Brasília, DF: Embrapa, 2016.

NEVES, M.F., TROMBIN, V.G., MILAN, P., LOPES, F.F., CRESSONI, F., KALARI, R. O retrato da citricultura brasileira. **Centro de pesquisa e projetos em marketing e estratégia.** p. 138. 2010.

NICULAU, E. DOS S. *et al*. Atividade inseticida de óleos essenciais de Pelargonium graveolens l'Herit E Lippia alba (Mill) NE. **Quimica Nova**, v. 36, n. 9, p.1391-1394, 2013.

PACHECO B., L.; ALVES A., V. Metabólitos secundários de plantas. **Revista Agrotecnologia**, v. 11, n. 1, 2020.

RASKIN, I. *et al.* Plants and Human Health in the Twenty-First Century. **Trends Biotechnology**, v. 20, n. 12, p. 522-531, 2002.

SÁ, C. G. *et al.* Efeito do tratamento agudo do óleo essencial de Citrus sinensis (L) Osbeck na aquisição da memória espacial de ratos avaliada no labirinto aquático de Morris. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 33, n. 2, 2012.fc

SELESTINO NETA, M. C. *et al.* Effects of β-caryophyllene and Murraya paniculata essential oil in the murine hepatoma cells and in the bacteria and fungi 24-h time–kill curve studies. **Pharmaceutical biology**, v. 55, n. 1, p. 190-197, 2017.

SILVA, F. F. M., *et al.* Análise da composição química do óleo essencial de capim santo (Cymbopogon citratus) obtido através de extrator por arraste com vapor d'água construído com materiais de fácil aquisição e baixo custo. **HOLOS**, v. 4, p. 144-152, 2014.

SOUZA, A. V. V. de, *et al*. Essential oil content and chemical composition of Lippia gracilis Schauer cultivated in the Sub-meddle São Francisco Valley. **Journal of Essential Oil Bearing Plants**, v. 20, n. 4, p. 983–994, 2017.

SPERANDIO, T. C. S. *et al.* Greening dos citrus: desafios e estratégias. **Tópicos Especiais em Agroquímica. Programa de Pós-Graduação em Agroquímica – UFES.** v. 4, p 162-181, 2024.

QIAN, Y.; ZHANG, Y.; JI, H.; ZHENG, L.; CHEN, G.; LU, X. Monoterpene sabinene suppresses hepatocarcinoma by regulating the AKT/mTOR and Bcl-2/Bax signaling pathways: an in vivo and in vitro analysis. **Journal of Biochemical and Molecular Toxicology**, v. 39, n. 12, e70596, 2025.

UNITED STATES DEPARTMENT OF AGRICULTURE (USDA). Foreign Agricultural Service. **Citrus: World Markets and Trade**. Washington, DC: USDA, 2023.