

Atividade de extrato de *Piper tuberculatum* Jacq. (*Piperaceae*) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)¹

***Piper tuberculatum* Jacq. (*Piperaceae*) extract activity on *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith)**

Maria de Jesus Passos de Castro^{2,*}, Paulo Henrique Soares da Silva³ e Luiz Evaldo de Moura Pádua⁴

Resumo: Objetivou-se avaliar em condições de laboratório o potencial inseticida do extrato aquoso de frutos frescos desidratados de *Piper tuberculatum* sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Folhas de milho cortadas em círculos com área de 7,06 cm² e 2,5 cm de diâmetro foram imersas em diferentes concentrações do extrato e oferecidas diariamente às lagartas. Utilizou-se o delineamento inteiramente casualizado com onze tratamentos e cinco repetições com sete lagartas por parcela. As variáveis avaliadas foram: mortalidade, consumo e duração larval. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Verificou-se que o extrato afetou as lagartas, reduziu o consumo e prolongou o período larval dos insetos.

Palavras-chave: *Piper*. Inseticidas botânicos. Extratos vegetais. Lagarta militar.

Abstract: The objective of this work was to evaluate in laboratory conditions the insecticidal potential of the aqueous extract of fresh fruit dehydrated of *Piper tuberculatum* on *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). Leaves of corn cut into circles with an area of 7.06 cm² and 2.5 cm in diameter were immersed in different concentrations of the extract and offered daily to caterpillars. The completely randomized design was used with eleven treatments and five replications with seven caterpillars per plot. The variables were: mortality, consumption and larval duration. Data were submitted to the analysis of variance by the F test and averages compared by the Tukey test at 5% of probability. The results indicated that the extract affected the caterpillars, reduced leaf consumption and lengthened larval period of the insects.

Key words: *Piper*. Botanical insecticides. Vegetal extracts. Fall armyworm.

* autor para correspondência

Recebido para publicação em 19/09/2007; aprovado em 23/04/2008

¹ Parte da Dissertação apresentada pelo primeiro autor ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Federal do Piauí, Teresina, PI, Brasil. 2007

² Bióloga, M. Sc. Em Agronomia, UFPI, PI, mjpcastro@gmail.com

³ Eng. Agrônomo, D. Sc., Pesquisador da Embrapa Meio-Norte, Av. Duque de Caxias, 5650, Cx Postal 01, Bairro Buenos Aires, 64006-220, Teresina, Piauí – Brasil, phsilva@cpamn.embrapa.br

⁴ Eng. Agrônomo, D. Sc., Prof. do Dep. de Fitotecnia, CCA/UFPI, lempadua@ufpi.br

Introdução

O controle de pragas tem sido realizado por meio de produtos químicos sintéticos, que além de agressivos ao meio ambiente, podem não apresentar eficiência quando aplicados incorretamente (ROEL; VENDRAMIM, 1999; ROEL et al., 2000). O uso indiscriminado e incorreto desses produtos tem aumentado o número de aplicações e diminuído sua eficiência, principalmente devido ao surgimento de populações de insetos resistentes a esses inseticidas (BOGORNÍ; VENDRAMIM, 2003).

Uma alternativa a essa situação é a produção de outros tipos de inseticidas, que sejam menos nocivos ao homem e ao meio ambiente. Produtos naturais extraídos de plantas são fontes promissoras e têm adquirido importância como alternativa para o controle de insetos, reduzindo os efeitos negativos ocasionados pela aplicação descontrolada dos inseticidas organossintéticos (VENDRAMIM; SCAMPINI, 1997).

As plantas inseticidas podem ser utilizadas de diversas formas, sendo mais comum o seu emprego na forma de pó seco, óleos, extratos aquosos e não aquosos, constituindo-se assim na melhor opção aos agricultores de baixa renda, que normalmente não dispõem de recursos econômicos e técnicos para aquisição e aplicação dos produtos sintéticos (VENDRAMIM, 1997), além de poderem utilizar a matéria prima do seu próprio ecossistema.

Dentre as plantas inseticidas atualmente estudadas, o melhor exemplo pode ser dado pela meliácea *Azadirachta indica* A. Juss, comumente conhecida por nim. Essa planta é considerada a mais importante e promissora espécie vegetal com atividade inseticida. Os bons resultados obtidos com o nim têm estimulado a pesquisa com outras meliáceas e diversas outras famílias botânicas (VENDRAMIM, 1997).

Apesar de menos pesquisada que as meliáceas, a família Piperaceae tem se revelado bastante eficaz para uso como inseticida botânico, especialmente as espécies pertencentes ao gênero *Piper*, que possuem metabólitos secundários como amidas, lignanas e flavonóides. Estudos realizados com espécies de *Piper* na Ásia e na

África revelaram que as lignanas e isobutilamidas são os compostos com maior atividade de defesa contra insetos (BERNARD et al., 1995).

No Brasil, as espécies *Piper aduncum* L., *Piper hispidinervum* C. DC. e *Piper tuberculatum* Jacq. têm sido investigadas sobre vários insetos. A planta de *P. tuberculatum* revelou atividade potencial no controle de *Alabama argillacea* (Hübner) (MIRANDA et al., 2002), *Apis mellifera* L. (MIRANDA et al., 2003), *Anticarsia gemmatilis* (Hübner) (NAVICKIENE et al., 2007) e *Diatraea saccharalis* (Fabricius) (MIRANDA et al., 2000).

Com base nesses fatos, desenvolveu-se esta pesquisa visando avaliar, em laboratório, o potencial inseticida de extratos aquosos de frutos verdes desidratados de *P. tuberculatum*, utilizando-se como inseto alvo a lagarta-do-cartucho-do-milho, *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith).

Material e métodos

O experimento foi desenvolvido no laboratório de Entomologia da Embrapa Meio – Norte em Teresina - Piauí, sob condições controladas em câmaras de B.O.D. (a 28 ± 2 °C; UR de $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas). Para realização dos testes, foi mantida em laboratório criação de *S. frugiperda*, onde as lagartas foram alimentadas com dieta natural à base de folhas de milho e os adultos com solução de mel a 10%.

Obtenção do extrato aquoso

Frutos verdes de *P. tuberculatum* foram coletados no campo experimental da Embrapa Meio-Norte e em seguida foram secos em estufa a 40 °C, por 48 h e, posteriormente, triturados em moinhos de facas, até obtenção do pó.

O extrato foi obtido pela imersão do substrato vegetal recém triturado em água destilada na proporção de 1:1,5 (p/v). A mistura repousou por 24 h em recipiente fechado e opaco para extração dos compostos hidrossolúveis. A solução resultante desse processo, aqui denominada de solução-estoque ou extrato bruto, foi preparada no momento da instalação do bioensaio, onde parte da qual foi diluída em

nove concentrações (10; 20; 30; 40; 50; 60; 70; 80 e 90% v/v), as quais juntamente com o extrato bruto e a testemunha (água destilada) constituíram onze tratamentos. Essas diluições (tratamentos) e a parte restante da solução que foi armazenada em frascos escuros foram conservados em refrigerador à temperatura de 5 °C, sendo preparadas novas diluições a cada 48 h, pouco antes da sua utilização.

Realização dos bioensaios

Para a realização dos bioensaios, foram utilizadas folhas de milho (cultivar São Vicente) cultivado no campo experimental da Embrapa Meio – Norte. Folhas cortadas em círculos com área de 7,06 cm², obtidos através de um vazador medindo 2,5 cm de diâmetro, foram imersas nos extratos por 3 minutos e secas em papel toalha, sendo posteriormente, oferecidas às lagartas com três dias de idade (criadas até essa fase em dieta natural) e individualizadas em placas plásticas. As folhas foram substituídas diariamente por outras tratadas, anotando-se a quantidade oferecida. Folhas de milho mergulhadas em água destilada foram utilizadas como testemunha.

O alimento não consumido durante o período larval foi recolhido em sacos de papel identificados que foram levados à estufa a 60 °C, onde permaneceram até as folhas de milho atingissem peso seco constante. O consumo foi medido através da área (cm²) pela diferença entre a área do alimento oferecido (multiplicando-se a quantidade de discos oferecidos pela área de um disco) e a área das sobras (obtida pela relação entre área e peso seco médio de um disco e o peso seco das sobras).

As variáveis avaliadas foram: mortalidade, consumo e duração larval. Para cada tratamento foram utilizadas 35 lagartas, distribuídas em 5 repetições, sendo que cada repetição consistiu de uma parcela representada por sete placas plásticas (6,0 cm de diâmetro por 2,0 cm de altura) contendo uma lagarta cada. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado. Os dados foram submetidos à análise de variância pelo teste F e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, sendo considerado para análise estatística valores de viabilidade larval igual ou superior a 28%.

Resultados e discussão

Efeito do extrato na mortalidade das lagartas

O extrato apresentou toxicidade às lagartas de *S. frugiperda*, tendo causado altos percentuais de mortalidade larval em todas as concentrações estudadas (Tabela 1).

Tabela 1 – Valores médios ($\pm$ EP)¹ correspondentes à mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas com folhas de milho tratadas com doses de extrato aquoso dos frutos desidratados de *Piper tuberculatum*

Tratamentos	Mortalidade (%)
Testemunha (água)	0,00 a
10% do Extrato bruto	6,82 $\pm$ 3,50 b
20% do Extrato bruto	79,98 $\pm$ 7,29 c
30% do Extrato bruto	100,00 $\pm$ 0,00 d
40% do Extrato bruto	100,00 $\pm$ 0,00 d
50% do Extrato bruto	97,14 $\pm$ 2,86 d
60% do Extrato bruto	91,42 $\pm$ 3,50 cd
70% do Extrato bruto	100,00 $\pm$ 0,00 d
80% do Extrato bruto	94,28 $\pm$ 3,50 cd
90% do Extrato bruto	97,14 $\pm$ 2,86 d
Extrato bruto	100,00 $\pm$ 0,00 d
CV	8,29
F	93,63

¹EP: Erro Padrão; Médias seguidas de mesma letra na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$)

Esses resultados estão de acordo com diversos trabalhos envolvendo o potencial inseticida de *P. tuberculatum* sobre vários insetos, como o de Miranda et al. (2002) que efetuaram aplicação tópica de extrato orgânico de sementes de *P. tuberculatum* em *A. argillacea*, verificando uma toxicidade dose-dependente e estimando DL₅₀ de 219 mg/inseto após 72 horas de exposição, e Miranda et al. (2003) que avaliaram a suscetibilidade de *A. mellifera* à pelitorina, uma amida de *P. tuberculatum*, e constataram baixos valores de doses letais sobre larvas e adultos dessas abelhas, indicando serem

essas suscetíveis à referida amida. Navickiene et al. (2007), após testarem extratos orgânicos de sementes, folhas e talos de *P. tuberculatum*, verificaram que esses extratos apresentaram atividade inseticida potencial, mostrando um processo de intoxicação rápido contra *A. gemmatilis*, causando 80% de mortalidade quando doses maiores que 800 µg inseto⁻¹ foram administradas.

Mesmo provocando elevados percentuais na mortalidade, o extrato não apresentou ação tóxica rápida, levando entre 20 e 23 dias para alcançar valores acima de 80% (Figura 1).

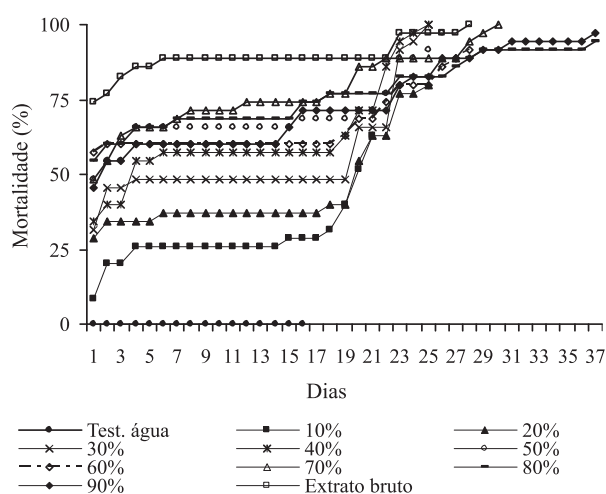


Figura 1 - Mortalidade larval acumulada de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas com folhas de milho tratadas com diferentes concentrações de extrato aquoso de frutos desidratados de *Piper tuberculatum*

Uma hipótese que pode explicar essa lenta mortalidade baseia-se na associação de lignanas ao grupo metilenedioxifenil, que segundo Bernardetal.(1990)são consideradas importantes inibidores de monooxigenases dependentes de citocromo P450, característico das piperáceas. De acordo com Fazolin et al (2005), muitos componentes potencialmente tóxicos contidos no alimento dos insetos são gradualmente eliminados por essa enzima destoxificativa antes de se acumularem a níveis letais. Assim, a rápida toxicidade pode ser consequência de um rápido acúmulo de componentes tóxicos. Por outro lado, no presente estudo, os frutos desidratados podem ter perdido (quantitativamente) durante

o processo de desidratação, a associação das lignanas ao grupo metilenedioxifenil, o que aumentaria a capacidade destoxificativa, permitindo o consumo dos insetos, ainda que de forma reduzida, mas o suficiente para mantê-los vivos por muitos dias.

Observou-se ainda que aquelas lagartas que sobreviveram até os 37 dias não conseguiram mais se alimentar e perderam a coordenação motora, apresentando uma coloração escura e por fim morreram, algumas delas na transição lagarta-pupa.

Para Trindade et al. (2000), essas alterações morfológicas e fisiológicas sugerem interferência de algum componente do extrato no sistema hormonal que regula o desenvolvimento larval do inseto. Mordue e Blackwell (1993) reportaram que essas alterações resultam da redução na concentração do ecdisonio ou atraso da sua liberação na hemolinfa e que isso é de grande importância, pois quando o desenvolvimento larval é afetado, obtém-se a diminuição da população do inseto na fase em que ocorre o dano às plantas.

Efeito do extrato no consumo e no período larval

O extrato afetou o consumo e o período larval de *S. frugiperda*, tendo provocado uma redução no consumo e um prolongamento do período larval. O consumo diferiu significativamente da testemunha a partir da concentração de 30% e o período larval, na concentração de 20% (Tabela 2).

Para Rodríguez e Vendramim (1997), existe uma provável relação entre o prolongamento da fase larval e a menor ingestão de alimento, por existir neste, um ou vários inibidores de alimentação ou por ocorrer inadequação nutricional do substrato alimentar. De fato, observou-se que em geral, nos tratamentos em que o período larval foi maior houve menor consumo, o que indica que o extrato pode conter substâncias deterrentes à alimentação dos insetos.

Fernandes et al. (1996) observaram 100% de deterência alimentar em *Anthonomus grandis* Boheman(Coleoptera:Curculionidae),utilizando extratos etanólicos de *Piper nigrum* e Parmar et

Tabela 2 - Valores médios ($\pm$ EP)¹ referentes ao consumo alimentar e ao período larval de *Spodoptera frugiperda*, alimentadas com folhas de milho tratadas com doses de extrato aquoso dos frutos desidratados de *Piper tuberculatum*

Tratamentos	Frutos Desidratados	
	Consumo (cm ²)	Período Larval (dias)
Testemunha (água)	129,23 $\pm$ 1,99 a	15,00 $\pm$ 0,05 a
10% do Extrato bruto	111,95 $\pm$ 11,84 a	17,76 $\pm$ 0,69 ab
20% do Extrato bruto	105,56 $\pm$ 13,79 ab	19,93 $\pm$ 1,45 b
30% do Extrato bruto	70,06 $\pm$ 11,81 bc	-
40% do Extrato bruto	56,55 $\pm$ 11,91 c	-
50% do Extrato bruto	37,38 $\pm$ 9,20 cd	22,002
60% do Extrato bruto	33,89 $\pm$ 7,78 cd	27,33 $\pm$ 0,33 c
70% do Extrato bruto	13,88 $\pm$ 4,93 d	-
80% do Extrato bruto	15,20 $\pm$ 4,70 d	29,50 $\pm$ 0,50 c
90% do Extrato bruto	11,63 $\pm$ 3,77 d	27,002
Extrato bruto	10,49 $\pm$ 8,06 d	-
CV	31,69	7,92
F	33,09	47,79

al. (1997), em estudos realizados com seis amidas isoladas de *Piper guineense* também verificaram atividade antialimentar para larvas de 5º instar de *Chilo partellus* (Swinhoe) (Lepidoptera: Pyralidae). Bernard et al. (1995), após testarem diversas espécies de piperáceas em *Ostrinia nubilalis* (Hübner) (Lepidoptera: Pyralidae), constataram diferentemente desses resultados que os extratos de piperáceas mostraram pouco efeito sobre o consumo e digestão do alimento, afetando apenas a eficiência de conversão do mesmo.

Navickiene et al. (2007), avaliando as isobutilamidas pelitorina e 4,5 diidropiperlonguminina das sementes de *P. tuberculatum*, verificaram que as doses

de 200 e 700 μ g inseto⁻¹ respectivamente, demonstraram uma ação tóxica quase que imediata à aplicação, provocando redução dos movimentos e praticamente cessando a alimentação de *A. gemmatilis*. Esses resultados contrastantes também mostram que a atividade tóxica dos extratos depende da espécie de inseto estudada.

Conclusão

O extrato aquoso de frutos desidratados de *P. tuberculatum* apresenta bioatividade às lagartas de *S. frugiperda*, reduzindo o consumo e prolongando a fase larval dos insetos.

Agradecimentos

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão de bolsa de estudos à primeira autora. Ao Banco do Nordeste do Brasil (BNB) e à FUNDECI, pelo apoio e suporte financeiro, respectivamente. À Dr^a Elsie Franklin Guimarães (Instituto de Pesquisa Jardim Botânico do Rio de Janeiro), pela identificação da espécie vegetal.

Referências

- BERNARD, C. B. et al. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. **Journal of Chemical Ecology**, v. 21, n. 06, p. 801-814, 1995.
- BERNARD, C. B. et al. In-vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the european corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 57, p. 17-22, 1990.
- BOGORNÍ, P. C.; VENDRAMIM, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, v. 32, n. 04, p. 665-669, 2003.
- FAZOLIN, M. et al. Toxicidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Ceratomyia tingomarianus* Bechyne (Coleoptera: Chrysomelidae). **Neotropical Entomology**, v. 34, n. 03, p. 485-489, 2005.
- FERNANDES, W. D. et al. Deterrência alimentar e toxidez de extratos vegetais em adultos *Anthonomus grandis* Boh. (Coleoptera: Curculionidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 25, n. 03, p. 553-556, 1996.

- MIRANDA, J. E. et al. Compostos inseticidas potenciais isolados de *Piper tuberculatum* – teste de suscetibilidade em *Diatraea saccharalis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE DEFENSIVOS AGRÍCOLAS NATURAIS, 1., 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Academia Cearense de Ciências, 2000. p. 44.
- MIRANDA, J. E. et al. Potencial inseticida do extrato de *Piper tuberculatum* (Piperaceae) sobre *Alabama argillacea* (Huebner, 1818) (Lepidoptera: Noctuidae). **Revista Brasileira de Oleaginosas e Fibrosas**, v. 06, n. 02, p. 557-563, 2002.
- MIRANDA, J. E. et al. Susceptibility of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae) to pellitorine, an amide isolated from *Piper tuberculatum* (Piperaceae). **Apidologie**, v. 34, p. 409-415, 2003.
- MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, v. 39, p. 903-924, 1993.
- NAVICKIENE, H. M. D. et al. Toxicity of extracts and isobutyl amides from *Piper tuberculatum*: potent compounds with potential for the control of the velvetbean caterpillar, *Anticarsia gemmatilis*. **Pest Management Science**, v. 63, p. 399-403, 2007.
- PARMAR, V. S. et al. Phytochemistry of the genus *Piper*. **Phytochemistry**, v. 46, n. 4, p. 597-673, 1997.
- RODRÍGUEZ H., C.; VENDRAMIM, J. D. Avaliação da bioatividade de extratos aquosos de Meliaceae sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). **Revista de Agricultura**, v. 72, n. 03, p.305-318, 1997.
- ROEL, A. R.; VENDRAMIM, J. D. Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). **Scientia Agricola**, v. 56, n. 03, p. 581-586, 1999.
- ROEL, A. R. et al. Efeito do extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. **Bragantia**, v. 59, n. 01, p. 53-58, 2000.
- TRINDADE, R. C. P. et al. Extrato metanólico da amêndoa da semente de nim e a mortalidade de ovos e lagartas da traça-do-tomateiro. **Scientia Agricola**, v. 57, n. 03, p. 407-413, 2000.
- VENDRAMIM, J. D. Plantas inseticidas. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENTOMOLOGIA, 16., 1997, Salvador. **Resumos...** Salvador: SEB; Cruz das Almas: EMBRAPA-CNPMP, 1997. p. 10.
- VENDRAMIM, J. D.; SCAMPINI, P. J. Efeito do extrato aquoso de *Melia azedarach* sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) em dois genótipos de milho. **Revista de Agricultura**, v. 72, n. 02, p. 159-170, 1997.