

Avaliação toxicológica do óleo essencial de *Piper affinis hispidinervum* para insetos pragas das culturas do milho e feijão.

Murilo Fazolin⁽¹⁾; Joelma Lima Vidal Estrela⁽¹⁾; Elizângela Sampaio de Albuquerque⁽¹⁾; Charles Rodrigues da Costa⁽¹⁾; Valdomiro Catani⁽¹⁾; Ana Suzette da Silva Cavalcante⁽¹⁾ e Janáina Estevo de Oliveira Damaceno⁽¹⁾

⁽¹⁾ Embrapa Acre, Caixa Postal 321- CEP 69901-108, Rio Branco, AC. E-mail: murilo@cpafac.embrapa.br; joelma@cpafac.embrapa.br; es_albuquerque@hotmail.com; charles@cpafac.embrapa.br; catani@cpafac.embrapa.br; susyflor@bol.com.br e janinhaestevo@hotmail.com.

RESUMO

Sarisan é um isômero da meristicina, descrito como bactericida e fungicida. Os teores deste composto, em plantas de *Piper affinis hispidinervum*, variam de 52,1% a 90,4%. É desconhecido ainda o potencial de uso inseticida do sarisan. A presença em sua estrutura química do grupo metilenodioxifenil associado a uma metoxila (OCH₃) é muito semelhante ao dilapiol. Lignanas associadas a esses compostos apresentam potencialidade de causarem mortalidade em insetos, devido serem importantes inibidores de monoxigenases dependentes de citocromo P450. Para a avaliação do efeito por contato em superfície contaminada, foram utilizados papéis filtro impregnados com diferentes quantidades do óleo essencial. Para a avaliação do efeito tópico foram aplicados 1µL de soluções com diferentes concentrações do óleo sobre larvas de *Spodoptera frugiperda* e adultos de *Sitophilus zeamais* e *Cerotoma tingomarianus*. A taxa de mortalidade foi a variável utilizada para avaliar os experimentos. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada bioensaio repetido duas vezes, realizando-se uma análise de Probit para a determinação das dose/concentrações-letais (CL₅₀ e DL₅₀). Os intervalos de variação da CL₅₀ (0,09 a 0,21 µL/cm²) e DL₅₀ (0,003 a 0,005 µL/mg de inseto) comprovam a toxicidade do óleo essencial de *P. affinis hispidinervum* para as espécies de insetos-praga avaliadas, porém as respostas dependem da concentração do óleo essencial e do método de exposição a que os insetos sejam submetidos.

Palavras-chave: *Piper affinis hispidinervum*, metilenodioxifenil, citocromo P450, sarisan, inseticida botânico.

ABSTRACT

Toxicological evaluation of essential oil of *Piper affinis hispidinervum* against insect pests of corn and beans.

Sarisan is an isomer of meristicin, described as a bactericide and fungicide. The contents of this compound in plants of *Piper affinis hispidinervum* ranging from 52.1% to 90.4%. It is still unknown

to the potential use of insecticide sarisan. The presence in the chemical structure of the group metilenodioxifenil associated with a methoxy (OCH₃) is very similar to dillapiol. Lignans associated with these compounds have the potential to cause mortality in insects, due they are important inhibitors of cytochrome P450-dependent monooxygenases. Filter paper with different amounts of oil were employed to evaluate the contact toxicity effects on the contaminated surface. For topical effect study, aliquots of 5 μ L of oil at different concentrations were applied on *Spodoptera frugiperda* larvae, *Sitophilus zeamais* and *Cerotoma tingomarianus* adults. Mortality rate was used to evaluate the trials. The experiment was arranged in complete randomized design with five replications where each bioassay was repeated twice. Probit analysis was employed in analyzing to determine the dose/concentration-mortality response (LD₅₀ and LC₅₀). The variation intervals of LC₅₀ (0.09 to 0.21 μ L/cm²) and LD₅₀ (0.003 to 0.005 μ L / mg insect) proved the toxicity of the essential oil of *P. affinis hispidinervum* for the species of pest insects evaluated, though the responses varied according to concentration of the essential oil and exposure methods.

Keywords: *Piper affinis hispidinervum*, metilenodioxifenil, cytochrome P450, sarisan, plant insecticide.

INTRODUÇÃO

Uma fonte de arilpropanóides é o sarisan, cujos teores, em plantas de *Piper affinis hispidinervum*, classificada por Bizzo et al. (2001), variaram de 52,1% a 90,4%. O sarisan é descrito como bactericida (Masuda et al., 1991) e fungicida (Villegas et al., 1988), no entanto, nenhuma referência bibliográfica foi recuperada relatando seu efeito inseticida. Apresenta em sua estrutura química o grupo metilenodioxifenil associado a uma metoxila (OCH₃).

A abundância dessa piperácea nos vales dos rios Juruá e Purus, no estado do Acre, associada à falta de informações sobre a utilização desses óleos essenciais como inseticida, sem que sejam necessárias purificações ou modificações químicas, objetivou o presente estudo.

MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção do óleo essencial de *P. affinis hispidinervum*

Plantas adultas de *P. affinis hispidinervum* foram coletadas no Banco Ativo de Germoplasma da Embrapa Acre. A massa vegetal foi submetida à secagem em estufa com circulação de ar, à temperatura de 40°C por um período de cinco dias. O material vegetal foi submetido ao processo de hidrodestilação, utilizando-se aparelho tipo Clevenger.

Determinação das curvas de concentração-mortalidade

Como insetos-teste foram utilizados indivíduos provenientes de criação massal de *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) e de *Sitophilus zeamais* Mots, assim como *Cerotoma tingomarianus* Bechné, coletados diretamente no campo.

Bioensaios toxicológicos

Em todos os bioensaios foram utilizadas placas de Petri, mantidas em câmara climatizada à temperatura de $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 5\%$ e fotofase de 12h, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos. O tempo de exposição dos insetos aos tratamentos, foi de 48h considerando-se a mortalidade cumulativa no período.

Determinação do efeito de contato em superfície contaminada

Bioensaios de concentração-mortalidade foram realizados com adultos de *C. tingomarianus* e *S. zeamais* confinados, em número de 10 indivíduos, em placa de Petri (9,0cm x 1,5 cm), constituindo-se em uma parcela experimental. Para *S. frugiperda*, utilizou-se 10 lagartas de 2º instar individualizadas em placas de Petri (5,0 cm x 1,0 cm). Em todos os casos, papéis-filtro foram impregnados com 0,5ml das concentrações do óleo essencial diluídos em acetona p.a., que após a evaporação, foram colocados nas placas de Petri, recebendo o número determinado dos insetos alvo.

Determinação do efeito por contato tópico.

Foi utilizado o mesmo procedimento experimental quanto às dimensões das placas de Petri e número de insetos por parcela. Neste caso, os insetos receberam uma aplicação na região dorsal do pronoto de 1µl das concentrações do óleo essencial, utilizando-se de uma microseringa graduada de 10 µl de capacidade. Posteriormente os insetos foram confinados nas placas sem revestimento de papel-filtro.

Delineamento experimental e análise dos dados.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com cinco repetições, sendo cada bioensaio repetido duas vezes, submetendo-se os valores de mortalidade á análise de Probit, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 2001).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores da inclinação da reta de dose x resposta obtidos pela análise de Probit, não se diferenciaram para *S. frugiperda* e *C. tingomarianus*, independentemente das vias de intoxicação a que foram submetidas essas espécies variando entre $0,60 \pm 0,06$ a $0,67 \pm 0,06$. Para *S. zeamais* foi obtido $0,046 \pm 0,06$ pela via de contaminação em superfície contaminada e $1,04 \pm 0,07$ para via de contaminação por contato tópico. Esses valores das inclinações foram próximos ou superiores aos obtidos em bioensaios utilizando *S. frugiperda* (Paiva & Fazolin, 2005), *C. tingomarianus* (Fazolin et al.,2005) e *S. zeamais* Estrela et al.(2006) submetidos ao tratamento com os óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinervum*.

Comparando-se os resultados das CL_{50} e DL_{50} pode-se observar que o óleo essencial de *P. affinis hispidinervum* apresenta toxicidade crescentes às três espécies de insetos avaliados, apresentando maior tolerância ao produto *S. zeamais*, seguido de *S. frugiperda* e finalmente *C.*

tingomarianus, mostrando-se toxicologicamente sensível, tanto ao contato tópico, como em superfície contaminada com esse o óleo essencial.

Os intervalos de variação da CL_{50} (0,09 a 0,21 $\mu\text{L}/\text{cm}^2$) e DL_{50} (0,003 a 0,005 $\mu\text{L}/\text{mg}$ de inseto) comprovam a toxicidade do óleo essencial de *P. affinis hispidinervum* para *S. zeamais*, *S. frugiperda* e *C. tingomarianus*, uma vez que foram numericamente próximos aos observados por Estrela et. al. (2006), Paiva & Fazolin (2005) e Fazolin et al.(2005).

Esta propriedade inseticida pode estar relacionada a associação de lignanas ao grupo metilenedioxifenil, presentes nas moléculas de sarisan, conferindo a esse composto, a propriedade de serem importantes inibidores de monoxigenases dependentes de citocromo P450. A alteração deste processo aumenta a letalidade dos insetos.

O óleo essencial de *P. affinis hispidinervum* apresenta potencial de uso inseticida para adultos de *C. tingomarianus* e *S. zeamais*, assim como para lagartas de *S. frugiperda*, devido aos efeitos toxicológicos letais que causam a essas espécies de insetos pelas vias de contato em superfície contaminada e tópica.

LITERATURA CITADA.

- BIZZO, H.R.; LOPES, D.; ABDALA, R.V.; PIMENTEL, F.A.; SOUZA, J.A. de; PEREIRA, M.V.G.; BERGTER, L.; GUIMARÃES, E.F. 2001. Sarisan from leaves of *Piper hispidinervum* C. DC (Long pepper). *Flavour and Fragrance Journal*, 16:113-115.
- ESTRELA, J. L. V.; FAZOLIN, M.; CATANI, V.; ALERCIO, M. R.; de LIMA, M. S. 2006. Toxicidade de óleos essenciais de *Piper aduncum* e *Piper hispidinervum* em *Sitophilus zeamais*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 41: 217-222.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; LIMA, M. S.; ALECIO, M. R. 2005. Toxidade do óleo de *Piper aduncum* L. a adultos de *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, 2: 485 – 489.
- MASUDA, T.; INAZUMI, A.; YAMADA, Y.; PADOLINA, W.G.; KIKUZAKI, H.; NAKATANI, N. 1991. Constituents of Piperaceae 4. Antimicrobial phenylpropanoids from *Piper sarmentosum*. *Phytochemistry*, 30:3227-3228.
- PAIVA, C.T.C., FAZOLIN, M. 2005. Bioatividade do óleo essencial de *Piper hispidinervum* C.DC. (Piperaceae) para *Ascia monuste* (Latr., 1819) (Lepidoptera: Pieridae). In: Seminário de Iniciação Científica PIBIC/CNPq/UFAC, 14. *Resumos ...* Rio Branco: UFAC (CD-ROM).
- SAS Institute, 2001. *User's Guide: Statistics, Version 8.2*. 6rd ed. Cary: SAS Institute.
- VILLEGAS, M.; VARGAS, D.; MSONTHI, J.J.; MARSTON, A.; HOSTETTMANN, K. 1988. Isolation of the antifungal compounds falcarindiol and sarisan from *Heteromorpha trifoliata*. *Planta Médica*, p. 36-37.