

EFEITO RESIDUAL DE EXTRATOS DE *Piper nigrum* (L.) SOBRE LARVAS NEONATAS DE *Sitotroga cerealella* (OLIV.)

Mari I.C. Boff¹ e Armando A. de Almeida²

ABSTRACT

Residual Effect of *Piper nigrum* (L.) Extracts on First Instar Larvae of *Sitotroga cerealella* (Oliv.)

Biological essays to determine the residual effect of different concentrations of *Piper nigrum* L. extracts to first instar larvae of *Sitotroga cerealella* (Oliv.), took place at zero (0), 15, 30, 60 and 90 days after treatment of grains. Concentrations higher than 20 mg/ml induced mortality above 90%. The toxic effects of the soxhlet methanolic, soxhlet acetic and crude methanolic extracts were higher than the crude acetic extract after 90 days.

KEY WORDS: Insecta, plant extracts, toxicity, pests of stored products.

RESUMO

Determinou-se o efeito residual, sobre larvas neonatas de *Sitotroga cerealella* (Oliv.), de diferentes concentrações dos extratos soxhlet metanólico e acetônico, macerado metanólico e acetônico de *Piper nigrum* (L.), expondo as larvas após zero, 15, 30, 60 e 90 dias da aplicação do extrato, nos grãos de milho. Todos os extratos em concentrações superiores a 20 mg/ml provocaram mortalidade superior a 90%. A persistência do efeito tóxico até 90 dias, após o tratamento, foi constatada em todos os extratos, exceto para o extrato macerado acetônico onde o efeito persistiu até 60 dias.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, extratos vegetais, toxicidade, pragas de produtos armazenados.

INTRODUÇÃO

A traça dos cereais, *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae), que ocorre, principalmente, nas regiões tropicais, é uma das principais pragas do milho armazenado. Caracteriza-se por atacar a superfície da massa de grãos, cujas larvas, logo após a eclosão, penetram nos grãos passando a viver e alimentar-se do seu interior, destruindo o embrião e o

Recebido em 20/07/93. Aceito em 02/03/95.

¹CAV/UEDESC, Av. Luiz de Camões 2090, Caixa postal 281, 88520-000, Lages, SC.

²Departamento de Zoologia, UFPR, Caixa postal 19020, 80000-000, Curitiba, PR.

endosperma, diminuindo o seu peso, valor nutritivo e poder germinativo (Murta 1991).

Vários extratos de origem vegetal em sido estudados quanto aos seus efeitos sobre o sistema hormonal dos insetos, além da ação tóxica, repelente, fagoinibidora, ovicida e de esterilidade (Hill 1990). Os frutos de *Piper nigrum* L. (pimenta-do-reino) possuem alcalóides, especificamente, do grupo amida insaturada, com ação tóxica sobre muitas espécies de insetos-pragas de produtos armazenados (Miyakado *et al.* 1983, 1989).

Neste trabalho, avaliou-se o potencial de utilização de extratos de pimenta-do-reino na proteção de grãos de milho contra *S. cerealella*, através da determinação de seu efeito residual tóxico sobre larvas neonatas do inseto.

MATERIAL E MÉTODOS

O ensaio foi conduzido no Laboratório de Pragas de Produtos Armazenados, Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. Os extratos da pimenta-do-reino foram obtidos através de dois métodos: maceração e soxhlet. Os solventes orgânicos utilizados para a extração foram acetona (PA) e metanol (PA).

No método maceração, 500 gramas de grãos de pimenta foram moídos em moinho caseiro até a condição de pó fino. Este pó foi separado em duas partes iguais e cada uma delas submetida a maceração durante 10 dias na proporção 1:1 (peso pó de pimenta: volume de solvente) com os respectivos solventes. Após este período, cada mistura foi filtrada e a solução obtida foi armazenada em frascos de cor escura e conservados a temperatura de zero graus centígrados.

No método soxhlet, duas amostras de 100 gramas de pimenta moída foram colocadas no extrator de soxhlet, com os respectivos solventes. Cada amostra permaneceu em processo de extração (refluxo) durante 18 horas e a solução obtida foi reduzida ao volume de 100ml, retirando-se o solvente no aparelho rota vapor. As amostras foram conservadas em frascos escuros à temperatura de zero graus centígrados.

Grãos de milho da cultivar 511A (Cargill) foram tratados aos 90, 60, 30, 15 e zero dias antes da infestação, com sete diluições, de cada um dos quatro extratos uma das quais serviu como testemunha em que era aplicado, apenas, o respectivo solvente. O delineamento experimental foi o completamente casualizado com quatro repetições. Cada parcela constituiu-se de 20 gramas de milho colocados em frascos de vidro (8 x 16cm), nos quais, 0,5ml da respectiva diluição era derramada pelas paredes internas do frasco. Em seguida, o frasco era imediatamente fechado e agitado, manualmente, por aproximadamente um minuto, a fim de cobrir, uniformemente, a superfície dos grãos. Após a volatilização dos solventes, os grãos foram colocados em frascos de acrílico (2,5 x 5cm), vedados com papel filtro e tampa plástica perfurada. Os frascos com o milho tratado foram conservados à temperatura ambiente protegidos da luz e de formas infestantes, até a data da infestação.

Cada parcela foi infestada com 35 larvas neonatas colocadas sobre os grãos de cada frasco. A transferência das larvas foi realizada com o auxílio de um pincel de cerdas delicadas. Após a infestação, os frascos foram transferidos para sala climatizada à temperatura de $25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ e umidade relativa de $80 \pm 10\%$. Trinta dias após a infestação, foram iniciadas avaliações diárias, durante 60 dias, para determinar os índices de mortalidade. A mortalidade natural avaliada foi corrigida pela fórmula de Abbott. A fim de obter normalidade na distribuição dos dados e poder realizar a análise de variância, os mesmos foram transformados para arco seno ($\sqrt{x/35}$), onde x é a mortalidade observada e 35 é o número total de larvas por parcela. Em

cada período residual foram testados modelos de regressão, sendo selecionado o modelo $Y = a + b * X + c * X^2 + d * X^3$, que melhor se ajustou, considerando, como parâmetro, o coeficiente de determinação (R^2 , ajustado). Na comparação de médias, por extrato dentro de cada período residual, considerou-se a menor diferença significativa, pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade de larvas neonatas de *S. cerealella* aumentou progressivamente com o aumento das concentrações nos quatro extratos testados de *P. nigrum*, em todos os períodos considerados. Para o extrato soxhlet metanólico (Fig. 1A, Tabela 1), nas concentrações de 20,9; 31,4 e 52,3 mg/ml, o efeito manteve-se inalterado até 90 dias do tratamento, com mortalidade superior a 92,4%. Aos zero e 30 dias, como período residual, concentração de 1,1 mg/ml causou aumento significativo da mortalidade. Tendência similar foi observada no aumento da concentração de 5,2 para 10,5 mg/ml.

No extrato soxhlet acetônico (Fig. 1B, Tabela 1), concentrações acima de 26,3 mg/ml causaram mortalidade acima de 90%, até 90 dias após o tratamento dos grãos. Na concentração 0,9 mg/ml a maior mortalidade foi observada no período residual de 60 dias, e a menor mortalidade foi observada no período de 30 dias após o tratamento. É possível que esta anormalidade seja devido à diferença de sensibilidade entre as larvas neonatas utilizadas.

Quando grãos de milho foram tratados com o extrato macerado metanólico (Fig. 1C, Tabela 1), observou-se mortalidade superior a 78,5% a partir da concentração de 15,3 mg/ml, até o período de 90 dias após o tratamento. Na concentração de 0,5 a mortalidade das larvas não diferiu da testemunha.

No extrato macerado acetônico (Fig. 1D, Tabela 1), concentrações acima de 4,5 mg/ml causaram mortalidade acima de 50% das larvas, ao passo que concentrações maiores que 13,5 mg/ml alcançaram mortalidade maior que 70%.

Observando-se os resultados conjuntamente, verifica-se que concentrações iguais ou maiores que 13,5 mg/ml causaram mortalidade superior a 70%, até 90 dias após aplicação, independente do extrato testado. Concentrações superiores a 20 mg/ml causaram mortalidade superior a 90%, num período de até 90 dias após aplicação do extrato, exceção verificada para o extrato macerado acetônico, no período residual de 90 dias.

Período de proteção semelhante foi observado por Abraham (1972) utilizando rizomas e pedaços de folhas secas ao sol de diversas plantas, misturados aos grãos de arroz infestados por *S. cerealella*. Extratos de *Azadirachta indica* (A. Juss.), na concentração de 1% e 0,5%, óleo essencial de *A. indica* a 1% e óleo de coco a 1%, proporcionaram proteção de grãos de arroz contra *S. cerealella* até 180 dias após o tratamento (Devi *et al.* 1982). Mocelin (1989) constatou efeito residual até 95 dias, no tratamento de grãos de milho por fenitroion a 7,5 ppm.

Santos (1977) relata que devido às larvas neonatas de *S. cerealella* serem muito frágeis e terem que penetrar nos grãos, abrindo o orifício de entrada com as próprias mandíbulas, é provável que a variação na dureza dos grãos e/ou a presença de certos compostos químicos, sobre os grãos, podem influir no número de emergências. Fato semelhante foi verificado neste trabalho, onde a redução do número de adultos emergidos, em função do aumento das concentrações, ocorreu em todos os extratos testados independente dos períodos residuais estudados. Mocelin (1989), observou que a mortalidade das larvas de *S. cerealella*, nos grãos de milho tratados, variou durante o período do experimento. Atribuiu esta variação às dificuldades naturais encontradas pelas larvas neonatas em penetrar os grãos. Também,

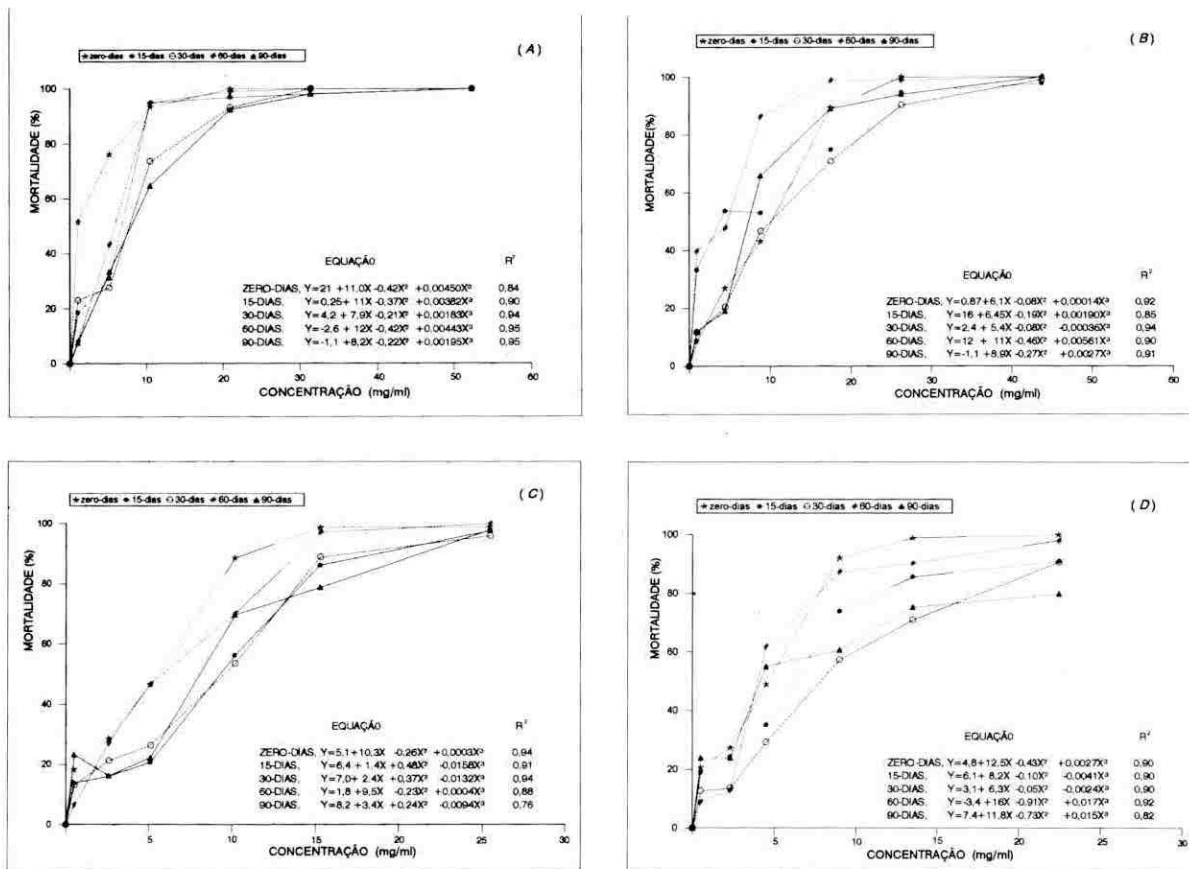


Figura 1. Efeito residual do extrato Soxhlet metanol (A), Soxhlet acetona (B), macerado metanol (C), macerado acetona (D) de *Piper nigrum* sobre larvas neonatas de *Sitotroga cerealella*. Mortalidade, corrigida pela fórmula de Abbott, de larvas expostas aos grãos de milho, após zero, 15, 30, 60 e 90 dias do tratamento.

Mondragón (1984) constatou influência do processo de penetração na mortalidade de larvas neonatas.

Sighamony *et al.* (1986) observaram que a atividade biológica do extrato acetônico de *P. nigrum* persistiu até 60 dias na proteção de grãos de trigo contra o ataque de *Sitophilus oryzae*.

Tabela 1. Mortalidade (%) de larvas neonatas de *Sitotroga cerealella* expostas a grãos de milho tratados com extratos de *Piper nigrum*, aos zero, 15, 30, 60 e 90 dias antes da infestação.

Extrato/ Concentração (mg/ml)	Dias entre o tratamento e a infestação ¹				
	0	15	30	60	90
Soxhlet Metanol					
0	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A
1,1	51,4 B	21,9 AB	22,9 B	3,1 A	1,8 A
5,2	76,1 C	36,1 B	27,5 B	43,3 B	33,9 B
10,5	93,3 D	95,2 C	73,5 C	94,8 C	65,0 C
20,9	100 D	97,1 C	93,1 D	98,9 C	92,4 D
31,4	100 D	98,0 C	100 D	100 C	98,1 D
52,3	100 D	100 C	100 D	100 C	100 D
C.V.	7,7	13	11	11	16
Soxhlet Acetona					
0	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A
0,9	7,5 A	33,3 B	0,9 A	47,5 B	11,8 A
4,4	26,8 AB	53,7 C	18,4 A	54,4 B	17,2 A
8,8	38,7 B	53,0 C	45,6 B	88,1 C	69,0 B
17,5	89,2 C	75,0 D	70,8 C	99,0 C	89,0 BC
26,3	100 C	94,7 E	90,2 CD	99,0 C	94,5 C
43,8	100 C	97,7 E	99,0 D	100 C	100 C
C.V.	22	13	19	9,6	19
Macerado Metanol					
0	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A
0,5	19,1 AB	6,8 A	9,1 AB	6,1 A	12,2 A
2,6	29,2 BC	12,6 A	23,8 B	22,8 AB	13,2 A
5,1	47,1 C	24,1 A	33,0 B	50,0 BC	21,4 A
10,2	88,7 D	56,3 B	57,6 C	71,9 CD	69,3 B
15,3	98,8 D	86,2 C	89,9 D	97,3 D	78,5 B
25,5	98,8 D	97,7 C	96,3 D	100 D	97,9 B
C.V.	15	26	17	29	39
Macerado Acetona					
0	0 A	0 A	0 A	0 A	0 A
0,5	24,7 A	17,8 AB	1,0 AB	16,6 A	18,6 A
2,3	34,6 AB	28,8 B	13,5 AB	21,9 A	18,6 A
4,5	55,4 B	38,9 B	24,9 B	65,7 B	51,9 B
9,0	93,0 C	75,4 C	57,2 C	88,5 C	57,8 B
13,5	99,0 C	86,4 C	70,8 CD	91,2 C	73,5 B
22,5	100 C	91,5 C	90,6 D	98,2 C	78,4 B
C.V.	21	20	26	14	24

¹Mortalidade corrigida pela fórmula de Abbott. Nas colunas, dentro de cada extrato, os valores seguidos pela mesma letra, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

(L.) e *Rhyzopertha dominica* (Fabr.). Musetti (1991), trabalhou com extratos soxhlet acetônico e metanólico de *P. nigrum*, para testar o efeito residual em grãos de milho contra o ataque de adultos de *S. zeamais*. Verificou que as concentrações de 25% e 50% do extrato acetônico e 50% do extrato metanólico, proporcionaram proteção aos grãos até 90 dias após o tratamento, enquanto que na concentração de 25% do extrato metanólico, a proteção se manteve até os 60 dias após o tratamento.

Nesse trabalho, observou-se que a mortalidade de *S. cerealella* causada pelos extratos soxhlet acetônico e metanólico, foi semelhante àquela observada por Musetti (1991), em *S. zeamais*, ou seja, mortalidade superior a 90% e efeito residual estável até 90 dias após a aplicação dos extratos. Verificou-se, também, que a mortalidade provocada pelo extrato metanólico foi superior a mortalidade provocada pelo extrato acetônico. Efeito contrário tem sido observado por Musetti (1991). É possível que devido a diferença de ordem, espécie e fase de vida entre *S. zeamais* e *S. cerealella*, resulte em diferentes reações aos extratos aplicados, bem como o tipo de substâncias tóxicas extraídas serem de ação diferente para os dois insetos.

Pelos resultados apresentados neste experimento, a aplicação de 100 gramas de extrato (peso seco) de pimenta-do-reino, por tonelada pode causar mortalidade superior a 90% de larvas infestantes de *S. cerealella*, em grãos de milho. Apesar de ser cinco vezes maior que a quantidade de princípio ativo de malathion recomendada no tratamento de grãos, 20 g/ton (Salazar *et al.* 1982), a aplicação de extratos de pimenta-do-reino pode ser viável no tratamento de grãos de milho para uso como sementes.

LITERATURA CITADA

- Abraham, C.C., B. Thomas, K. Karunaakaran & R. Gopalakrishnan. 1972. Relative efficiency of some plant products in controlling infestation by the angoumois grain moth *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae) infesting stored paddy in Kerala. Agric. Res. J. Kerala 10: 59-60.
- Devi, D.A. & N. Mohandas. 1982. Relative efficacy of some antifidants and deterrents against insect pest of stored paddy. Entomon. 7: 261-264.
- Hill, D.S. 1990. Pest of stored products and their control. London, Brit. Library, 274p.
- Miyakado, M., I. Nakayama & N. Ohno. 1989. Inseticidal unsaturated insobutylamides: from natural products to agrochemical leads, p. 173-187. In J. T. Arnason, B.J.R. Philogene & P. Morand (eds.). Insecticides of plant origin. Washington, Am. Chem. Soc., 213p.
- Miyakado, M., I. Nakayama, N. Ohno & H. Yoshioka. 1983. Structure chemistry and action of the piperaceae amides: new insecticidal constituents isolated from the piper plant, p. 369-381. In D.L. Whitehead & W.S. Bowers (eds.). Natural products for innovative pest management. London, Pergamon Press Ltd.
- Mocelin, G. 1989. Avaliação da atuação dos inseticidas deltametrin e fenitroton sobre ovos e larvas de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lep.: Gelechiidae). Tese de mestrado, UFPR, Curitiba, 97p.

- Mondragón, I. 1984.** Influência da temperatura no desenvolvimento da *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lep.: Gelechiidae) e avaliação de seus prejuízos em milho armazenado. Tese de mestrado, UFPR, Curitiba, 144p.
- Murta, R.G.C. 1991.** Avaliação de danos causados por uma geração de *Sitotroga cerealella* (Olivier, 1819) (Lep.: Gelechiidae) em grãos de milho armazenado. Tese de mestrado, UFPR, Curitiba, 106p.
- Musetti, L. 1991.** Avaliação de efeitos de extratos de *Piper nigrum* L. sobre adultos de *Sitophilus zeamais* (Mots., 1855) (Coleoptera: Curculionidae). Tese de mestrado, UFPR, Curitiba, 79p.
- Salazar, C.E., M.S. Guerra & V.V. Vieira. 1982.** Inseticidas e acaricidas - toxicologia; receituário agrônômico. Piracicaba, Livroceres, 424p.
- Santos, J.P. 1977.** A Brazilian corn germplasm collection screened for resistance to *Sitophilus zeamais* (Motschulsky) (Coleoptera: Curculionidae); and *Sitotroga cerealella* (Olivier) (Lepidoptera: Gelechiidae). Tese de mestrado, Purdue University, Indiana, EUA, 162p.
- Sighamony, S., I. Anees, T. Chandrakala & Z. Osmani. 1986.** Efficacy of certain indigenous plant products as grain protectants against *Sitophilus oryzae* (L.) and *Rhyzoperta dominica* (F.). J. Stored Prod. Res. 22: 21-23.
-