



## **Toxicidade residual do extrato de *Piper cubeba* (Piperales: Piperaceae) para *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae)**

*Residual toxicity of Piper cubeba extract (Piperales: Piperaceae) for Plutella xylostella (Lepidoptera: Plutellidae)*

VIEIRA, Natalia Fernanda; TRUZI, Caio Cesar; NASCIMENTO, Vinícius Ferraz; SOUZA, Joice Mendonça; LACERDA, Letícia Barbosa de; DE BORTOLI, Sergio Antonio

<sup>1</sup> Departamento de Ciências da Produção Agrícola, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP, Brasil, vf.nascimento@unesp.br

### **RESUMO EXPANDIDO**

#### **Eixo Temático: Manejo de Agroecossistemas**

**Resumo:** *Plutella xylostella* é a principal praga das brassicáceas devido a alimentação das larvas, podendo causar até 100% de prejuízo. Com o presente trabalho objetivando avaliar a toxicidade do extrato de *Piper cubeba* para essa praga. Foram avaliadas as concentrações de 7,0%, 5,0%, 3,0%, 1,0%, 0,5%, 0,26% e 0,14% em discos foliares de couve (8,0 cm de diâmetro) pulverizados com o extrato diluído em solução aquosa de Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%), com os controles usando água deionizada + DMSO 0,5% e apenas água deionizada. Os discos tratados foram colocados em placas de Petri (9,0 cm) juntamente com 10 lagartas de terceiro instar, sendo cada disco uma repetição, conduzindo-se 10 repetições por tratamento. O extrato afetou o desenvolvimento larval, resultando de 90 a 100% de mortalidade nas concentrações entre 7% e 1%, com 15,0% e 46,0% de lagartas mortas, respectivamente, nos controles com água + DMSO 1,0% e água.

**Palavras-chave:** extrato botânico, planta inseticida, brássicas, traça das crucíferas

#### **Introdução**

As espécies pertencentes à família Brassicaceae são amplamente cultivadas como hortaliças no Brasil, incluindo repolho, couve, couve-flor e brócolis. Um dos principais desafios enfrentados por essas culturas é a presença do inseto-praga *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae), que é considerado uma ameaça, tanto no Brasil quanto em âmbito mundial (SARFRAZ et al., 2006; DA ROCHA et al., 2019).

Para controlar essa praga, diversos inseticidas são frequentemente utilizados ao longo do ciclo de cultivo. No entanto, o uso excessivo desses produtos químicos acarreta problemas para a saúde dos agricultores e para o meio ambiente. Além disso, esse uso indiscriminado exerce pressão seletiva, favorecendo o surgimento de populações de insetos-praga resistentes a esses compostos químicos (CASTELO BRANCO, 1999; SILVA FILHO, 2023).

Portanto, é crucial encontrar abordagens mais sustentáveis e eficazes para o manejo dessa praga, a fim de minimizar os danos à saúde humana, ao ambiente e reduzir a ocorrência de resistência. Neste contexto, o interesse por produtos botânicos para utilização no controle de insetos-praga tem aumentado, sendo que o



potencial inseticida de extratos botânicos depende da presença de substâncias bioativas em suas constituições, sendo de extrema importância estudos que possam gerar produtos ambientalmente mais seguros para o controle de insetos-praga (SANTOS et al., 2022; RAGUVARAN et al., 2023).

Diversas espécies plantas possuem atividade inseticida relatada, porém muitas ainda precisam ser estudadas para posteriormente serem utilizadas nos cultivos agrícolas (NASCIMENTO, et al., 2022). Dentre essas plantas destacam-se algumas espécies da família Piperaceae, com o gênero *Piper* tendo realce pelo fato de suas espécies apresentarem metabólitos secundários bioativos, como certas amidas, lignanas, flavonoides, alcaloides, arilpropanoides e ésteres graxos (TRINDADE e SILVA, 2008; CASTRO et al., 2010). Frente a isso, extratos vegetais e óleos essenciais têm se demonstrado opções viáveis para o controle de *P. xylostella* (JESUS et al., 2011; BOIÇA JUNIOR et al., 2021).

Como pouco se sabe sobre o efeito do extrato de *Piper cubeba* L. (Piperales: Piperaceae), especialmente em *P. xylostella*, o objetivo deste trabalho foi avaliar sua toxicidade para essa praga, em condições de laboratório.

## Metodologia

Os experimentos foram realizados no Laboratório de Biologia e Criação de Insetos (LBCI) do Departamento de Ciências da Produção Agrícola da FCAV/UNESP, Jaboticabal, São Paulo, em sala climatizada (temperatura de  $25 \pm 1^\circ\text{C}$ , fotoperíodo de 12h de luz/12h de escuro e umidade relativa de  $70 \pm 10\%$ ).

Obtenção do extrato: O extrato hexânico de *P. cubeba* foi no Laboratório de Química de Produtos Naturais da UNIFRAN, Franca, SP, sendo oriundo de sementes de *P. cubeba* importadas da Índia, com o procedimento de extração relatado por TRUZI (2020).

Criação de *Plutella xylostella*: Foram utilizadas lagartas de uma população resistente a toxinas de *B. thuringiensis* HD-1, denominada população denominada *Bt* é originária de uma população suscetível e selecionada a cada geração com a linhagem *B. thuringiensis* var. *kurstaki* HD-1 mantida no LBCI.

A metodologia utilizada para realização da criação dos insetos foi descrita por DE BORTOLI et al. (2017), sendo o substrato para alimentação e oviposição folhas couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*, cv. Manteiga), cultivada em área experimental da FCAV-Unesp. Adultos recém-emergidos foram transferidos para gaiolas plásticas cilíndricas transparentes (13,0 cm de diâmetro x 15,0 cm de altura), com duas aberturas, uma lateral retangular (10,0 cm x 5,0 cm), coberta por tecido tipo “voile”, cujo objetivo é melhor aeração interna, e outra, também retangular (10,0 cm x 2,0 cm), fechada com filme plástico PVC, para manuseio interno. Na parte superior tem uma abertura circular (2,3 cm de diâmetro), utilizada para fixação de um pedaço de espuma plástica envolta por tecido tipo “voile”, embebida em solução aquosa de mel a 10,0% para alimentação dos adultos.

No interior das gaiolas foram colocados discos de folha de couve de 8,0 cm de diâmetro, substrato para a oviposição, assentados sobre discos de papel filtro de 9,0 cm de diâmetro umedecidos com água destilada; como suporte para os discos foi utilizado um copo plástico transparente em posição invertida. Os discos (couve e



papel) foram trocados diariamente, sendo os de couve contendo as posturas acondicionados em placas de Petri (9,0 cm), até a eclosão das lagartas. Após a eclosão, os discos com as lagartas foram transferidos para recipientes plásticos retangulares (27,0 cm de comprimento x 17,0 cm de largura x 8,0 cm de altura) contendo folhas de couve, substrato alimentar das lagartas. A troca das folhas do recipiente foi feita diariamente até que os insetos atingissem a fase pupal. As pupas foram coletadas com o auxílio de pinça e transferidas para tubos de ensaio de fundo chato (8,5 cm x 2,0 cm) vedados com filme plástico de PVC, sendo acondicionadas aproximadamente 30 pupas por tubo.

**Toxicidade via ingestão:** Para o teste via ingestão (toxicidade oral), discos foliares de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala* cv. Manteiga) de 9,0 cm de diâmetro foram pulverizados individualmente com soluções do extrato de *P. cubeba*, nas concentrações 7%, 5%, 3%, 1%, 0,5%, 0,26% e 0,14% diluído em água deionizada com Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%). Nos tratamentos controles as folhas foram pulverizadas apenas com água deionizada + Dimetilsulfóxido (DMSO 0,5%) e água deionizada. Cada disco foliar foi pulverizado com as soluções até o escorrimento e deixados secar em temperatura ambiente, sendo então colocados individualmente em placas de Petri (10,0 cm de diâmetro), sobre papel filtro umedecido com água deionizada. Em cada placa foram alocadas 10 lagartas de terceiro ínstar de *P. xylostella* e, quando houve necessidade, foi feita a reposição dos discos por outros não tratados. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com 9 tratamentos x 10 repetições, sendo as duas primeiras avaliações de mortalidade larval realizadas 12 horas e 24 horas após o início do bioensaio, e as demais a cada 24 horas até a morte de todos os insetos ou a passagem ao estágio pupal.

**Análise estatística:** Os dados de toxicidade foram submetidos aos testes Bartlett e Kolmogorov, para constatação de normalidade e homogeneidade da variância, visando verificar se atendem aos requisitos da análise de variância (ANOVA). Como os pressupostos não foram atendidos, utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis ( $P < 0,05$ ). Para a condução das análises foi utilizado o software SAS (SAS INSTITUTE, 2015).

## Resultados e Discussão

No ensaio de toxicidade via ingestão, a concentração de 7,0% provocou mortalidade de 90,0% das lagartas após 24 horas de exposição, com mortalidade total após 48 horas. As concentrações de 5,0%, 3,0% e 1,0% também resultaram em elevada mortalidade de lagartas ( $> 90,0\%$ ) durante o período de avaliação. Esses tratamentos apresentaram maior toxicidade em relação ao tratamento com 0,5% do extrato que causou uma mortalidade de 64,0%. A redução na concentração também resultou em menor mortalidade de lagartas, sendo de 26,0% e 12,0% nas concentrações de 0,26% e 0,14%, respectivamente. O tratamento com DMSO causou 20,0% de mortalidade, enquanto na testemunha com água deionizada foi de apenas 10,0% (Tabela 1).

TORRECILLAS e VENDRAMIM (2001) destacam a eficácia dos extratos, como o aquoso de *Trichilia pallida* (Meliaceae) a 1%, que provocou mortalidade de



100% em lagartas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1794) (Lepidoptera: Noctuidae) antes de completarem 10 dias de idade. Em um contexto semelhante, PITON et al. (2014) avaliaram o potencial inseticida do extrato cetônico de folhas de *Piper aduncum*, nas concentrações de 8,0% e 4,0%, para ninfas de *Euschistus heros* (Fabr., 1798) (Hemiptera: Pentatomidae), obtendo mortalidades de 72,0% e 52,0%, respectivamente, com efeitos adversos também na reprodução e sobrevivência dos percevejos.

Ao considerar os resultados de DEBONSI et al. (2009) no estudo do extrato de sementes de *P. tuberculatum* e os achados de SANTOS et al. (2010) sobre o extrato acetônico das folhas de *Piper hispidum*, percebemos uma relação interessante. Ambos os estudos indicam a capacidade de extratos de plantas afins, pertencentes ao gênero *Piper*, em causar alta mortalidade em insetos-alvo, como *Diatraea saccharalis* e *Hypothenemus hampei*. Além disso, evidências anteriores sugerem que os óleos essenciais de *Piper* podem conter compostos com propriedades antialimentares (ANDRÉS et al., 2017; JAMARILLO-COLORADO et al., 2019). Portanto, é plausível que o extrato de *P. cubeba* tenha induzido a morte das lagartas por inanição, baseando-se na capacidade desses extratos de afetar a alimentação e na toxicidade observada em outros estudos relacionados ao gênero *Piper*.

**Tabela 1.** Mortalidade acumulada (%) de lagartas de *Plutella xylostella* alimentadas com couve tratada com diferentes concentrações do extrato de *Piper cubeba* e nos controles.

| Tratamentos | Mortalidade acumulada (%) |                |                |                |                |                 |                 |
|-------------|---------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
|             | 24 horas                  | 48 horas       | 72 horas       | 96 horas       | 120 horas      | 144 horas       | 168 horas       |
| 7,00%       | 90,0 ± 8,16 a             | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a  | 100,0 ± 0,00 a  |
| 5,00%       | 67,0 ± 12,52 b            | 89,0 ± 13,70 b | 93,0 ± 10,59 a | 93,0 ± 10,59 a | 93,0 ± 10,59 a | 93,0 ± 10,59 a  | 93,0 ± 10,59 a  |
| 3,00%       | 81,0 ± 22,34 a            | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a | 100,0 ± 0,00 a  | 100,0 ± 0,00 a  |
| 1,00%       | 24,0 ± 15,78 c            | 86,0 ± 17,76 b | 90,0 ± 12,47 a | 90,0 ± 12,47 a | 90,0 ± 12,47 a | 90,0 ± 12,47 a  | 90,0 ± 12,47 a  |
| 0,50%       | 13,0 ± 14,18 d            | 18,0 ± 13,98 c | 26,0 ± 17,76 b | 47,0 ± 14,29 b | 57,0 ± 21,11 b | 63,0 ± 20,58 b  | 64,0 ± 21,19 b  |
| 0,26%       | 1,0 ± 3,16 d              | 2,0 ± 4,22 d   | 5,0 ± 7,07 c   | 17,0 ± 9,49 c  | 22,0 ± 9,19 c  | 26,0 ± 9,66 c   | 26,0 ± 9,66 c   |
| 0,14%       | 0,0 ± 0,00 d              | 3,0 ± 4,83 d   | 7,0 ± 8,23 c   | 10,0 ± 10,54 c | 10,0 ± 10,54 c | 12,0 ± 10,33 d  | 12,0 ± 10,33 d  |
| Água + DMSO | 4,0 ± 5,16 d              | 7,0 ± 8,23 d   | 8,0 ± 9,19 c   | 15,0 ± 12,69 c | 16,0 ± 12,65 c | 20,0 ± 14,14 cd | 20,0 ± 14,14 cd |
| Água        | 1,0 ± 3,16 d              | 3,0 ± 6,75 d   | 7,0 ± 13,37 c  | 9,0 ± 12,86 c  | 10,0 ± 12,47 d | 10,0 ± 12,47 d  | 10,0 ± 12,47 d  |

<sup>a</sup>Médias ± erro padrão seguidas de mesma letra na linha não diferem pelo teste de Kruskal-Wallis (P > 0,05).

Assim, devido à excelente atividade inseticida demonstrada pelo extrato hexânico de *P. cubeba*, ele apresenta-se como uma alternativa potencial e promissora para o controle de *P. xylostella*, principalmente se for realizado o isolamento de suas substâncias bioativas levando à síntese de nova molécula para elaboração de inseticida em escala comercial.





## Conclusões

O extrato de *P. cubeba* nas concentrações utilizadas apresenta excelente ação inseticida para lagartas de *P. xylostella*, destacando-se a concentração de 1%.

## Referências

- ANDRÉS, M. F. et al. Biocidal effects of *Piper hispidinervum* (Piperaceae) essential oil and synergism among its main components. **Food and Chemical Toxicology**, v. 109, p. 1086-1092, 2017.
- BOIÇA JÚNIOR, A. L. et al. Efeito de extratos aquosos de plantas no desenvolvimento de *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) em couve. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 72, p. 45-50, 2021.
- CASTELO BRANCO, M. Avaliação da eficiência de formulações de *Bacillus thuringiensis* para o controle de traça-das-crucíferas em repolho no Distrito Federal. **Horticultura Brasileira**, v. 17, p. 237-240, 1999.
- CASTRO, M. J. P.; et al. Potencial de extratos de frutos frescos e desidratados de *Piper tuberculatum* Jacq. (Piperaceae) no desenvolvimento da lagarta-do-cartucho do milho. **Magistra**, v. 22, n.2, p. 88-95, 2010.
- DA ROCHA, C. M. et al. Efeito de produtos químico, biológico e extrato de planta, aplicados no substrato de oviposição, em ovos de *Plutella xylostella*. **Anais do Congresso Brasileiro de Fitossanidade**, v. 5, n. 1, 4 dez. 2019.
- DEBONSI, H. M.; et al. Isobutyl amides - potent compounds for controlling *Diatraea saccharalis*. **Pest Management Science**, v. 65, n. 1, p. 47-51, 2009.
- DE BORTOLI, S. A.; et al. Effect of *Bacillus thuringiensis* on parasitoids and predators. In: FIUZA, L. M.; et al. (eds.) **Bacillus thuringiensis and Lysinibacillus sphaericus**: characterization and use in the field of biocontrol. Cham: Springer, 2017. p. 67-78.
- JARAMILLO-COLORADO, Beatriz E.; PINO-BENITEZ, Nayive; GONZALEZ-COLOMA, Azucena. Volatile composition and biocidal (antifeedant and phytotoxic) activity of the essential oils of four Piperaceae species from Choco-Colombia. **Industrial Crops and Products**, v. 138, p. 111463, 2019.
- JESUS, F. G. et al. Efeito de plantas inseticidas no comportamento e biologia de *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, n. 2, p. 279-285, jun. 2011.
- NASCIMENTO, V. F. et al. Insecticidal activity of aqueous extracts of plant origin on *Mahanarva spectabilis* (Distant, 1909) (Hemiptera: Cercopidae). **Agronomy**, v. 12, n. 4, p. 947, 2022.
- PITON, L. P.; et al. Natural insecticide based-leaves extract of *Piper aduncum* (Piperaceae) in the control of stink bug brown soybean. **Ciência Rural**, v. 44, n. 11, 2014.



RAGUVARAN, K. et al. Bioefficacy of isolated compound l-isoleucine, N-allyloxycarbonyl-, and dodecyl ester from entomopathogenic actinobacteria *Actinokineospora fastidiosa* against agricultural insect pests, human vector mosquitoes, and antioxidant activities. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 30, n. 15, p. 42608–42628, 2023.

SANTOS, I. L. P. D. et al. **Conservation practices for maintenance of natural enemies in agroecosystems**. In: NASCIMENTO, J. D. et al. (Eds.). Topics in agricultural entomology - XIII. 1. ed. [s.l.] Atena Editora, 2022. p. 18–35.

SANTOS, M. R. A. et al; Atividade inseticida do extrato das folhas de *Piper hispidum* (Piperaceae) sobre a broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). *Revista Brasileira de Botânica*, v. 32, n. 2, 2010

SARFRAZ, M.; et al. Diamondback moth-host plant interactions: implications for pest management. **Crop Protection**, v. 25, p. 625-639, 2006.

SAS Institute. SAS/IML® 14.1 User's guide. 2015. Cary: SAS Institute Inc.

SILVA FILHO, J. G. D. et al. High resistance levels in brazilian *Plutella xylostella* populations: needs for adjustments in field concentration. **Revista Caatinga**, v. 36, n. 1, p. 53–60, mar. 2023.

TORRECILAS, S. M.; VENDRAMIM, J. D. Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 27-31, 2001.

TRINDADE, F. T. T.; SILVA, A. A. Avaliação da atividade larvicida dos extratos de *Piper tuberculatum* Jacq. e *Piperala tabaccum* Trel & Yuncker sobre as larvas de *Anopheles darlingi* (Diptera:Culicidae). **Anais...** Porto Velho: Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica. 2008.

TRUZI, C. C. ***Helicoverpa armigera* e *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae): dieta artificial, produtos para controle e efeitos em polinizadores**. 2022. 156 p. Tese (Doutorado em Agronomia/Entomologia Agrícola) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal.