

PROPRIEDADE INSETICIDA DOS ÓLEOS ESSENCIAIS DE *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum SOBRE *Tenebrio molitor* L., 1758⁽¹⁾

Insecticidal properties of essential oils of *Piper hispidinervum* C. DC.; *Piper aduncum* L. and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum against *Tenebrio molitor* L., 1758.

Murilo Fazolin², Joelma Lima Vidal Estrela³, Valdomiro Catani⁴, Marcio Rodrigo Alcício⁵, Marilene Santos de Lima⁵

RESUMO

Óleos essenciais das piperáceas *Piper aduncum* L., *Piper hispidinervum* C. DC. e da bignoniácea *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum foram avaliados para o controle de larvas de *Tenebrio molitor* L., 1758. Para a avaliação do efeito por contato em superfície contaminada, foram utilizados papéis-filtro impregnados com diferentes quantidades dos óleos essenciais. Para a avaliação do efeito tópico foram aplicados 5 mL de soluções com diferentes concentrações dos óleos sobre larvas de quinto instar do inseto. A taxa de mortalidade foi a variável utilizada para avaliar os experimentos. Todos os óleos essenciais apresentaram efeito inseticida sobre larvas de *T. molitor*, sendo que as respostas variaram em função da concentração utilizada, assim como do método de exposição do inseto. A toxicidade dos óleos essenciais foi elevada apresentando os seguintes valores de CL₅₀: 0,045; 0,033 e 1,515 mL de óleo cm⁻² para exposição por contato (papel filtro) aos óleos de *P. hispidinervum*, *P. aduncum* e *T. nocturnum*, respectivamente. Para a aplicação tópica, os valores da DL₅₀ foram de: 0,000025; 0,009 e 0,000015 mL de óleo mg de inseto⁻¹ para os óleos essenciais de *P. hispidinervum*, *P. aduncum* e *T. nocturnum*, respectivamente. Resultados promissores para o emprego desses óleos essenciais como inseticidas foram obtidos utilizando-se concentrações acima de 3,0% (v v⁻¹) para *P. hispidinervum* e 2,5% (v v⁻¹) para *P. aduncum* e *T. nocturnum*.

Termos para indexação: Pimenta longa, dilapiol, safrol, mandelonitrila, inseticidas botânicos.

ABSTRACT

Essential oils from *Piper aduncum* L., *Piper hispidinervum* C. DC. (Piperaceae) and *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur. & K. Shum (Bignoniaceae) were tested against *Tenebrio molitor* L., 1758 larvae. Filter paper with different amounts of oils were employed for contact toxicity effects study. For topical effect study, aliquots of 5 mL of oils at different concentrations were applied on larvae of the fifth instar. Mortality rate was used to evaluate the assays. All essential oils possessed insecticidal effect to *T. molitor*, but the responses varied according to oil concentration and method of exposure. The toxicities of essential oils to *T. molitor* were elevated, with LC₅₀ of 0.045, 0.033 and 1.515 mL of the oil/cm² for contact (filter-paper) applications of the *P. hispidinervum*, *P. aduncum* and *T. nocturnum* oil, respectively. For topical application the values of the LD₅₀ were: 0.000025, 0.009 and 0.000015 mL of the oil /mg of the insect, for *P. hispidinervum*, *P. aduncum* and *T. nocturnum* oil, respectively. The most promising results for the use of such oils as insecticide were obtained using concentrations above 3.0% (v v⁻¹) for *P. hispidinervum* and 2.5% (v v⁻¹) for *P. aduncum* and *T. nocturnum* essential oils.

Index terms: Long piper, dillapiol, safrole, mandelonitrile, plant insecticide.

(Recebido para publicação em 3 de janeiro de 2005 e aprovado em 6 de junho de 2006)

INTRODUÇÃO

A diversidade da flora brasileira apresenta um imenso potencial para a produção de compostos secundários, que têm sido demandados continuamente pela indústria, nas últimas décadas, devido ao incremento da utilização de produtos naturais na agropecuária (PLETSCH & SANT'ANA, 1995). Segundo estes autores, 16% das 500.000 espécies de plantas, que se estima existirem no mundo, encontram-se na floresta Amazônica. No entanto, a pesquisa de substâncias ativas derivadas

de plantas no Brasil ainda é muito insipiente. Até o início da década de 80 foi estimado que menos de 1% das espécies da flora brasileira eram conhecidas quanto aos seus constituintes químicos (GOTTLIEB et al., 1981). Mesmo considerando ter havido incrementos significativos a partir desse percentual nas últimas duas décadas, há, evidentemente, uma grande lacuna de conhecimento da nossa flora a ser preenchida. Em decorrência disso, desenvolver ensaios, isolar, caracterizar e finalmente sintetizar ou biossintetizar compostos de interesse no controle de insetos torna-se um desafio constante (SHAPIRO, 1991).

¹Trabalho financiado pelo CNPq.

²Pesquisador Doutor em Entomologia – Embrapa Acre – Rodovia BR-364, km 14 – Cx. P. 392 – 69.901-180 – Rio Branco, AC – murilo@cpafac.embrapa.br

³Pesquisadora Visitante, Mestre em Entomologia- CNPq- DCR – Rodovia BR 364, km 14 – Cx. P. 392 – 69.901-180 – Rio Branco, AC.

⁴Químico, Doutor em Química – Embrapa Acre – Rodovia BR-364, km 14 – Cx. P. 392 – 69.901-180 – Rio Branco, AC.

⁵Graduando do Curso de Agronomia, Bolsista CNPq/PIBIC – Universidade Federal do Acre – Cx. P. 500 – 69.915-900 – Rio Branco, AC.

Plantas, como organismos que coevoluem com insetos e outros microrganismos, são fontes naturais de substâncias inseticidas e antimicrobianas, já que as mesmas podem ser produzidas pelo vegetal em resposta a ataques de insetos e microrganismos, respectivamente. O uso de extratos de plantas inseticidas, inclusive os compostos aleloquímicos como os óleos essenciais, eram empregados no controle de insetos antes do advento das substâncias orgânicas sintéticas (REGNAULT-ROGER, 1997).

As espécies do gênero *Piper* são amplamente aplicadas na medicina popular em função das propriedades microbianas exibidas por seus constituintes. *Piper hispidinervum* C. DC.; vulgarmente conhecida como pimenta longa, é rica em safrol, componente químico aromático, que é empregado como matéria prima na manufatura de heliotropina, importante fixador de fragrâncias, e butóxido de piperonila, agente sinérgico de inseticidas naturais (PIMENTEL et al., 1998a). A bioatividade de safrol e isosafrol foi estudada também por Huang et al. (1999) em relação à *Tribolium castaneum* Herbst.; 1797 e *Sitophilus Zeamais* Mots.; 1865, o que permitiu evidenciar que houve efeito fumigante dessas substâncias sobre adultos de ambas espécies de pragas em concentrações a partir de 0,90 mg cm⁻² para o safrol e 0,42 mg cm⁻² para o isosafrol.

Dentre as piperáceas da Amazônia, a pimenta de macaco, *Piper aduncum* L., é uma excelente produtora de óleo essencial, o qual possui alto teor do éter fenílico dilapiol (MAIA et al., 1998). Bernard et al. (1995) compararam o extrato alcóolico de folhas de dezesseis espécies de *Piper*, apontando *P. aduncum* como a de maior atividade inseticida para larvas de segundo instar de *Aedes atropalpus* (Coquillett). Nesse ensaio, extrato aquoso de plantas frescas de *P. aduncum* aplicado diretamente na água, na concentração de 10 ppm, causaram a mortalidade de 50% das larvas de segundo instar desse culicídeo. Já o dilapiol isolado e purificado, apresentou, nas mesmas condições experimentais, 92% de eficiência no controle das larvas na concentração de 1 ppm.

Fazolin et al. (2005) obtiveram resultados promissores utilizando o óleo essencial de *P. aduncum* no controle de *Cerotoma tingomarianus* Bechyne, importante desfolhador de leguminosas da Amazônia. Nesse estudo, foi avaliada a intoxicação por contato, sendo que por superfície contaminada o valor da concentração letal (CL₅₀) foi de 0,003 mL de óleo cm⁻² e por aplicação tópica a dose letal (DL₅₀) foi de 0,002 mL de óleo mg de inseto⁻¹.

A utilização rotineira de plantas bioativas por populações tradicionais na Amazônia aponta o cipó de

“Kangarà Kanê”, *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bureau. & K. Shum. (Bignoniaceae), como inseticida, uma vez que os índios Kayapós (Pará) utilizam-no para matar abelhas (KERR & POSEY, 1991).

Devido à abundância de *P. hispidinervum*, *P. aduncum* e *T. nocturnum* na Região de Rio Branco (AC), aliado à infra-estrutura de destilação já instalada na região, para a obtenção dos óleos essenciais de pimentas longas, foi conduzida uma série de bioensaios com o objetivo de comparar o efeito inseticida dos óleos essenciais dessas plantas. Parra (1998) considera que em bioensaios desta natureza deveriam ser utilizados insetos alvo. Entretanto, considera também que devido à dificuldade de criação de muitas dessas espécies, é comum a utilização de outros insetos que não sejam alvo, mas facilmente criados em laboratório, destacando-se dentre eles *Tenebrio molitor* L.; 1758. Trata-se de um coleóptero da família Tenebrionidae cujas larvas destroem farinhas fubás, farelos, rações, macarrão, grãos quebrados ou anteriormente danificados. Desta forma, utilizou-se essa espécie como modelo, objetivando viabilizar a utilização desses óleos no manejo integrado de pragas em pequenas propriedades da Amazônia Ocidental.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre utilizando-se larvas de 5º instar de *T. molitor*. As plantas de *P. hispidinervum* e *P. aduncum* foram coletadas de um banco de germoplasma e as plantas de *T. nocturnum* da reserva florestal da instituição.

Obtenção e composição dos óleos essenciais

Plantas adultas de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foram coletadas na Coleção de Germoplasma da Embrapa Acre, cortadas a 0,4 m do solo, separando-se somente as folhas para processamento. A massa vegetal foi submetida à secagem por seis dias em secador solar, até atingir de 20 a 30% de umidade, sendo revolvida duas vezes ao dia para facilitar a aeração Pimentel et al. (1998b). Para extração do óleo de *T. nocturnum*, foram selecionadas plantas que apresentaram secções de caule de até 1 cm de diâmetro separando-se as folhas frescas. Em todos os casos colocaram-se 500 g de folhas e 2,0 L de água em balão de fundo redondo de 5L. Submeteram-se as misturas ao processo de hidrodestilação, utilizando-se aparelho tipo Clevenger dotado de equalizador de pressão, seguindo-se a metodologia de Innocentini (2000). Após a decantação de cada óleo e secagem com sulfato de magnésio anidro,

obteve-se rendimento dos óleos essenciais na faixa de 3,0% a 3,5% para *P. hispidinervum*, de 2,0 a 2,2% para *P. aduncum* e de 0,8% para *T. nocturnum*.

A análise cromatográfica dos óleos essenciais de *P. aduncum* e *P. hispidinervum* foram efetuadas em cromatógrafo a gás HP5890, equipado com coluna de sílica fundida Agilent HP5 (30 m x 0,32 mm d.i. x 0,25 mm de espessura do filme) tendo hélio como gás de arraste a 1 mL min⁻¹. Empregou-se gradiente de temperatura de 80 a 140°C (4 °C min⁻¹) e de 140 a 240 °C (20 °C min⁻¹). O injetor e detector (FID) foram mantidos a 280 °C e 300 °C, respectivamente. As amostras foram preparadas a 1% em diclorometano e injetadas (1mL) com divisão de fluxo de 1:100. A quantificação das substâncias deu-se por integração eletrônica dos sinais, sendo que o tempo de retenção e a porcentagem dos principais constituintes estão de acordo com amostras autênticas fornecidas por Bizzo et al. (2001) e Lopes et al. (2001).

A análise do óleo essencial de *T. nocturnum* foi realizada em cromatógrafo gasoso (VARIAN, modelo 3800) acoplado a espectrômetro de massas (VARIAN-SATURN 2000), equipado com coluna VARIAN Va-5 (30 m x 0,25 mm d.i. x 0,25 mm de espessura do filme) e detector de ionização de chamas (FID). O injetor foi mantido a 250 °C, detector a 280 °C e gradiente de temperatura de 60 a 240 °C (5 °C min⁻¹). Foram injetados 1mL de solução 1:1000 (óleo:solvente) em diclorometano com divisão de fluxo de 1:100. A quantificação das substâncias deu-se por integração eletrônica dos sinais. As análises de cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas foram realizadas no mesmo aparelho com interface para CG-MS SATURN 2000. As condições de análises foram: hélio como gás de arraste com fluxo de 1mL min⁻¹, programação de 60 a 240 °C (5 °C min⁻¹), mantendo o injetor e a interface a 280 °C. O espectrômetro de massas operou com ionização por impacto eletrônico de 70 eV e varredura de 50 a 700 unidades. Os componentes individuais foram identificados por comparação com os espectros de massas da biblioteca de espectros. As análises foram realizadas no Laboratório de Análises Química do Instituto Médico Legal de Rio Branco, AC.

Realizou-se uma análise complementar visando à quantificação do teor de ácido cianídrico das folhas de *T. nocturnum*, utilizando-se as metodologias de Bradbury et al. (1999) e Egan et al. (1998). Foram tomadas 100 mg de folhas, que após maceradas em almofariz foram acondicionadas em um pote plástico de 50 mL contendo 1 mL de água e papel de filtro com uma solução tampão de pH 6. Colocou-se à borda do pote um papel de picrato sem que tocasse o líquido. O controle consistiu de um pote

contendo a solução tampão, água e o papel de picrato. Deixaram-se os potes em repouso por 18 horas à temperatura ambiente. Após esse período, mergulharam-se em 5,0 mL de água por 30 min, separadamente, os papéis de picrato do pote das folhas maceradas e do controle. Em seguida realizaram-se as leituras de absorvância (510 nm) das soluções de picrato das folhas, corrigida pela leitura da solução controle, em espectrofotômetro B422 Micronal. O teor de HCN total (ppm) foi calculado pela seguinte equação: HCN total (ppm) = 396x absorvância x 100 peso da amostra⁻¹ (mg).

Obtenção de *Tenebrio molitor*

Os insetos utilizados nos experimentos foram provenientes da Embrapa Recursos Genéticos, sendo criados em condições de laboratório em recipientes plásticos de 30 cm x 15 cm x 3 cm em sala climatizada a 24 ± 1 °C e umidade relativa de 70% ± 4 %. A alimentação de larvas e adultos consistiu de uma mistura de farelo de trigo, farinha de mandioca, farinha de rosca e aveia na proporção de 3:1:1:1 em peso. As larvas foram separadas dos adultos e quando atingiram o 5º instar foram utilizadas na experimentação.

Curvas de concentração x mortalidade

Foram realizados testes preliminares com larvas de *T. molitor*, para obtenção de faixas de respostas, ou seja, intervalos de concentração dos óleos que ocasionaram mortalidade do inseto desde próximo de zero até próximo de 100%. Cada faixa de resposta foi obtida a partir de 50 mL de cada óleo essencial submetidos a diluições sequenciais em acetona p.a. até obter-se a concentração de 0,1% (v v⁻¹) de cada óleo. Dentro dessa ampla faixa de concentração foram obtidas faixas mais estreitas de respostas. Na avaliação do efeito de contato em superfície contaminada as concentrações variaram de: 2,0 % a 10% (v v⁻¹) para o óleo essencial de *P. hispidinervum* de 1% a 7,5% (v v⁻¹) para *P. aduncum* e de 10⁻¹ % a 7,5% (v v⁻¹) para *T. nocturnum*. Nas avaliações do efeito de contato via aplicação tópica essa faixa de resposta foi de 10⁻¹ % a 5 % (v v⁻¹) para o óleo essencial de *P. hispidinervum* e de 10⁻¹ % a 10% (v v⁻¹) para os óleos essenciais de *P. aduncum* e *T. nocturnum*.

Dentro desses intervalos, foram estabelecidas entre cinco e seis concentrações, além de um controle (acetona). Essas concentrações foram usadas nos bioensaios definitivos de curva de concentração-mortalidade e determinação da concentração e dose com probabilidade de causar 50% de mortalidade (CL₅₀ e DL₅₀) para cada óleo, seguindo-se a metodologia descrita por Finney (1971).

Bioensaios Definitivos

Contato em superfície contaminada (papel filtro)

Bioensaios de concentração-mortalidade foram realizados utilizando-se larvas de *T. molitor* em placas de Petri contendo papéis filtro impregnados com 0,5 mL das seguintes concentrações dos óleos essenciais: 0,1%, 1,0%, 2,5%, 5,0% e 7,5% (v v⁻¹) para *P. aduncum* e *T. nocturnum*; e 1,0%, 2,0%, 3,0%, 4,0%, e 5% (v v⁻¹) para *P. hispidinervum*. Depois da evaporação total do solvente, os papéis filtro foram colocados nas placas de Petri, que em seguida receberam 20 larvas de *T. molitor*.

Contato por aplicação tópica

Os bioensaios consistiram na aplicação tópica de 0,5mL das seguintes concentrações dos óleos essenciais: 0,1%, 1,0%, 2,5%, 5,0%, 7,5%, e 10,0% (v v⁻¹) para *P. aduncum* e *T. nocturnum*; e 2,0%, 3,0%, 4,0%, 5,0%, 6,0%, 8,0%, e 10,0% (v v⁻¹) para *P. hispidinervum*. A aplicação foi realizada na região protorácica de cada larva, com auxílio de uma microsseringa. Posteriormente, foram formados grupos de dez indivíduos em cada placa de Petri.

Tanto nos testes preliminares como nos bioensaios definitivos, utilizaram-se placas de Petri (9,0 cm x 1,5 cm), mantidas em estufa incubadora para B.O.D. climatizada à temperatura de 25 °C ± 1°C, umidade relativa de 70 ± 5% e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos insetos. O tempo de exposição aos óleos foi de 48 horas. Considerou-se a mortalidade cumulativa no período.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo cada bioensaio repetido três vezes, realizando-se uma análise conjunta dos resultados.

Em todos os bioensaios, os dados de mortalidade de concentração resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando-se o *software* SAS (SAS INSTITUTE, 1989). Depois de estimadas as CL₅₀ e DL₅₀, foram usadas como concentrações discriminatórias na detecção da toxicidade em relação a *T. molitor*.

Os valores de mortalidade foram corrigidos pela fórmula de Abbott (BUSVINE, 1971), transformando-se os valores em $\arcsin \sqrt{x/100 + 0,5}$ para realização da análise de variância e comparação das médias pelo teste de Scott & Knott (1974), utilizando o Sistema para Análise de Variância- SISVAR (FERREIRA, 2000).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

A análise cromatográfica (FID) dos óleos essenciais apontou como componente majoritário o dilapiol (73,97%)

e safrol (94,72%) para *P. aduncum* e *P. hispidinervum*, respectivamente.

A análise do óleo essencial de *T. nocturnum* por cromatografia gasosa apontou como componente principal o benzaldeído (88,4%), concordando com o trabalho precedente de Gottlieb et al. (1981). Por meio da análise qualitativa do óleo essencial por cromatografia gasosa acoplada ao detector de massas, foi possível identificar o benzaldeído que apresenta íons com m z⁻¹106 (76%, M⁺, C₇H₆O), m z⁻¹105 (100%, C₇H₅O) e m z⁻¹77 (30%, C₆H₅); e a a-(benziloxi)-mandelonitrila em m z⁻¹237 (100%, M⁺, C₁₅H₁₁NO₂); m z⁻¹192 (10%, M⁺-45); m z⁻¹116 (76%, M⁺-121; C₈H₆N); m z⁻¹105 (95%, M⁺-132; C₇H₅O). Não foi possível confirmar a presença de mandelonitrila no óleo essencial de *T. nocturnum*, o que pode ter ocorrido devido a sua instabilidade nas condições de análise. No entanto, foi determinada uma concentração média de 636 ppm de ácido cianídrico em folhas recém-coletadas de *T. nocturnum*, sugerindo que seja este o provável responsável pelo princípio inseticida do óleo. Para Vetter (2000), é conhecido o fato de que plantas cianogênicas acumulam ácido cianídrico via glicosídeos cianogênicos. A indicação da presença da a-(benziloxi)-mandelonitrila e benzaldeído sugerem que o grupamento mandelonitrila poderá estar associado à glicosídeos cianogênicos, fonte de ácido cianídrico quantificado nas folhas de *T. nocturnum*. Esta hipótese está sendo objeto de investigação.

O óleo essencial de *P. hispidinervum* apresentou os maiores valores da inclinação das curvas nas duas vias de intoxicação testadas (Tabela 1). As inclinações das curvas de concentração x mortalidade são parâmetros indicativos da ação tóxica dos óleos (FRAGOSO et al., 2002). Essa maior inclinação da curva de concentração x mortalidade do óleo de *P. hispidinervum* indica que pequena variação na concentração ou dose desse óleo provoca grande mortalidade do inseto alvo, quando comparado aos óleos essenciais de *P. aduncum* e *T. nocturnum*.

Considerando-se as concentrações dos óleos essenciais que promoveram mortalidade acima de 80% de larvas de *T. molitor* expostas por contato em superfície contaminada, pode-se destacar: *T. nocturnum* a 2,5%, 5,0% e 7,5% (v v⁻¹), *P. aduncum* a 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10,0% (v v⁻¹) e *P. hispidinervum* a 3,0%, 4,0% e 5,0% (v v⁻¹) (Figura 1). O óleo essencial de *T. nocturnum* nas concentrações de 5,0% e 7,5% (v v⁻¹) foi letal para a totalidade dos insetos por essa via de intoxicação, diferindo significativamente da

TABELA 1 – Toxicidade dos óleos essenciais de *Piper aduncum*, *P. hispidinervum* e *Tanacetum nocturnum* sobre larvas de *Tenebrio molitor* submetidas aos efeitos de contato em superfície contaminada e contato por aplicação tópica.

Óleos	Efeitos	G.L	n	Inclinação + EPM	CL50 (IC95%) (μl de óleo cm^{-2})	DL50 (IC95%) (μl de óleo mg de inseto $^{-1}$)	χ^2	Prob
<i>P. hispidinervum</i>		18	480	1,40 \pm 0,12	0,045 (0,042- 0,053)	-	20,90	0,2844
<i>P. aduncum</i>	Contato	4	480	0,30 \pm 0,06	0,033 (0,012- 0,056)	-	1,92	0,7508
<i>T. nocturnum</i>		13	480	0,54 \pm 0,10	1,515(1,243-1,842)	-	17,85	0,1634
<i>P. hispidinervum</i>		5	480	0,92 \pm 0,12		0,000025(0,000023- 0,000027)	5,15	0,3587
<i>P. aduncum</i>	Tópica	22	480	0,45 \pm 0,06		0,009 (0,008- 0,0011)	17,8	0,7198
<i>T. nocturnum</i>		4	480	0,56 \pm 0,06		0,000015 (0,00001-0,00002)	1,42	0,8412

GL= grau de liberdade, EPM= erro padrão da média, IC= intervalo de confiança, DL= dose letal, χ^2 = Qui-quadrado e Prob.= probabilidade, n= Número de insetos usados no teste.

mortalidade provocada pelas maiores concentrações do óleo de *P. aduncum* (7,5% e 10,0% (v v $^{-1}$)) e de *P. hispidinervum* (4,0% e 5,0% (v v $^{-1}$)) que não diferiram significativamente entre si.

Pela volatilidade apresentada pelo óleo essencial de *Piper hispidinervum* pode-se também atribuir os altos valores de mortalidade de *T. molitor* ao efeito conjunto contato e fumigação, uma vez que experimentos realizados por Huang et al. (1999) avaliando a mortalidade de larvas e adultos de *Tribolium castaneum* Herbst, 1797 submetidos a aplicações de diferentes concentrações de safrol, somente isolaram o efeito de contato por superfície contaminada quando as arenas de vidro utilizadas na experimentação não foram cobertas.

Na avaliação do efeito da aplicação tópica dos óleos essenciais as concentrações que promoveram mortalidade acima de 80% de larvas de *T. molitor* foram: *T. nocturnum* a 5,0%; 7,5% e 10,0% (v v $^{-1}$), *P. aduncum* a 2,5%, 5,0%, 7,5% e 10,0% (v v $^{-1}$) e *P. hispidinervum* a 8,0% e 10,0% (v v $^{-1}$) (Figura 2). O óleo essencial de *P. aduncum* nas concentrações de 7,5% (v v $^{-1}$) e 10,0% (v v $^{-1}$) foi letal para a totalidade dos insetos por essa via de intoxicação não diferindo significativamente da mortalidade provocada pelo óleo de *T. nocturnum* na concentração de 10% (v v $^{-1}$). Os valores de mortalidade desse grupo de óleos/concentrações diferiram significativamente do óleo de *T. nocturnum* a 5% (v v $^{-1}$), *P. aduncum* a 2,5% (v v $^{-1}$) e *P. hispidinervum* a 8,0% e 10,0% (v v $^{-1}$), não diferindo, entretanto significativamente entre si (Figura 3).

A alta toxicidade do óleo essencial de *P. aduncum* a larvas de *T. molitor* em concentrações acima de 2,5% (v v $^{-1}$) pode ser atribuída à ação sinérgica do óleo de *P. aduncum*, como sugerido nos experimentos realizados por Bernard et al. (1995) e Mukerjee et al. (1979), os quais determinaram que o grupo metilenodioxifenil presente nas lignanas é uma característica das piperáceas, e são consideradas importantes inibidores de monooxigenases dependentes de citocromo P450. Desta forma, o efeito inseticida do dilapiol pode estar relacionado à ação conjunta desta lignana e outros compostos bioativos minoritários na composição do óleo essencial, tais como sarisan (BIZZO et al., 2001) e principalmente, safrol (HUANG et al., 1999), uma vez que eles apresentam em sua estrutura o grupo metilenodioxifenil (Figura 3), sendo relatados como inseticidas naturais.

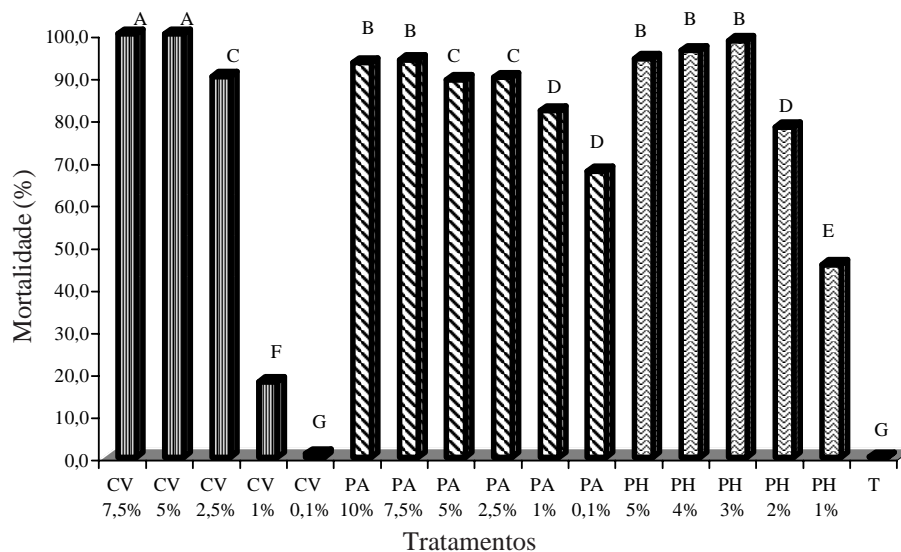


FIGURA 1 – Mortalidade de *Tenebrio molitor* por diferentes concentrações de óleos essenciais de *Tanaecium nocturnum*, *Piper aduncum* e *P. hispidinervum* por via de contato em superfície contaminada.

Letras diferentes mostram diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott a $P < 0,01$.

TN- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *T. nocturnum*; PA- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *P. aduncum*; PH- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *P. hispidinervum* e T- Testemunha.

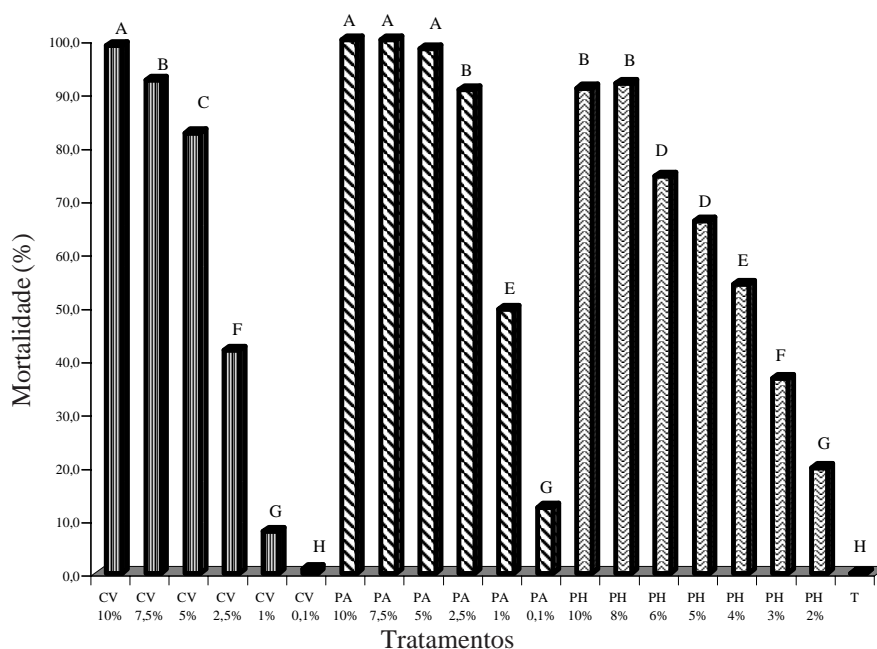


FIGURA 2 – Mortalidade de *Tenebrio molitor* por diferentes concentrações de óleos essenciais de *Tanaecium nocturnum*, *Piper aduncum* e *P. hispidinervum* por via de contato por aplicação tópica.

Letras diferentes mostram diferenças entre as médias pelo teste de Scott-Knott a $P < 0,01$.

TN- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *T. nocturnum*; PA- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *P. aduncum*; PH- Concentrações (v v⁻¹) do óleo essencial de *P. hispidinervum* e T- Testemunha .

- GOTTLIEB, O. R. M.; KOKETSU, M.; MAGALHÃES, M. T.; MAIA, J. G. S.; MENDES, P. H.; ROCHA, A. I.; SILVA, M. L.; WILBERG, V. C. Óleos essenciais da Amazônia VII. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 11, p. 143-148, 1981.
- HUANG, Y.; HO, S. H.; KINI, M. Bioactivities of safrole and isosafrole on *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae) and *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae). **Journal of Economic Entomology**, Lanham, v. 92, n. 3, p. 676-683, 1999.
- INNOCENTINI, A. P. **Extração e caracterização analítica do óleo essencial da espécie Aniba canelilla, visando o isolamento do composto majoritário, 1-nitro-2-feniletano, e seu estudo toxicológico**. 2000. 125 f. Dissertação (Mestrado em Química Analítica) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2000.
- KERR, W. E.; POSEY, D. A. "Kangàrà Kanê" *Tanaecium nocturnum* (Bignoniaceae), um cipó usado pelos índios Kayapó como inseticida natural. **Acta Amazonica**, Manaus, v. 7, p. 23-26, 1991.
- LOPES, D.; BIZZO, H. R.; OLIVEIRA, D. R.; LIMA, M. F.; PIMENTEL, F. A. **Avaliação química dos óleos essenciais de exemplares de pimenta longa (*Piper hispidinervum* C. DC.) do Estado do Acre**. Rio Branco: Embrapa-CPAF/AC, 2001. 226 p. (Documentos, 75).
- MAIA, J. G. S.; ZOGHBI, M. G. S.; ANDRADE, E. H. A.; SANTOS, A. S.; SILVA, M. L.; LUZ, A. I. R.; BASTOS, C. N. Constituents of the essential oil of *Piper aduncum* L. growing in the Amazon Region. **Flavour and Fragrance Journal**, Scotland, v. 13, p. 269-272, 1998.
- MUKERJEE, S. K.; SAXENA, V. S.; TOMAR, S. S. New methylenedioxyphenyl synergists for pyrethrins. **Journal of the Science and Food Agriculture**, Washington, v. 27, p. 1209-1211, 1979.
- PARRA, J. R. P. Criação de insetos para estudos com patógenos. In: ALVES, S. B. (Ed.). **Controle microbiano de insetos**. Piracicaba: FEALQ, 1998. 1163 p.
- PIMENTEL, F.A., J.B.M. PEREIRA; M.N. DE OLIVEIRA. **Zoneamento e caracterização de habitats naturais de pimenta longa (*Piper hispidinervum*) no Acre**. Rio Branco: Embrapa CPAF/AC, 1998. 17p. (Boletim de Pesquisa, 20).
- PIMENTEL, F.A., W.G. CABRAL, M.R. DA SILVA; P.S.N. PINHEIRO. **Processo de secagem de biomassa de pimenta longa (*Piper hispidinervum*)**. Rio Branco: Embrapa CPAF/AC, 1998. 2p. (Comunicado Técnico, 98).
- PLETSCH, M.; SANT'ANA, A. E. G. Secondary compound accumulation in plants: the application of plant biotechnology to plant improvement. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON CHEMISTRY OF THE AMAZON, 2., 1995, Manaus. **Anais...** Manaus: Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, 1995. v. 5, p. 51-64.
- REGNAULT-ROGER, C. The potential of botanical essential oils for insects pest control. **Integrated Pest Management Reviews**, The Netherlands, v. 2, p. 25-34, 1997.
- SAS INSTITUTE. **SAS user's guide: statistics**. Version 6.12. Cary, 1989.
- SCOTT, A. J.; KNOTT, T. M. A cluster analysis method for grouping means in the analysis of variance. **Biometrics**, Washington, v. 30, p. 507-512, 1974.
- SHAPIRO, J. P. Phytochemicals at the plant-insect interface. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology**, London, v. 17, p. 191-200, 1991.
- VETTER, J. Plant cyanogenic glycosides. **Toxicon**, Washington, v. 38, p. 11-36, 2000.