

Ação inseticida do extrato de *Derris amazonica* Killip para *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae)

Márcio Rodrigo ALECIO¹, Murilo FAZOLIN², Rosalee Albuquerque COELHO NETTO³, Valdomiro CATANI⁴, Joelma Lima Vidal ESTRELA⁵, Suziane Barros ALVES⁶, Raquel da Silva CORREA⁷, Romeu de Carvalho ANDRADE NETO⁸, Adriana Dantas GONZAGA⁹

RESUMO

A abundância e o potencial inseticida de *Derris amazonica* e a necessidade de controle de *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae) na cultura do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp) estimularam a realização desta pesquisa, que objetivou avaliar a ação inseticida do extrato de *D. amazonica* a adultos de *C. arcuatus* em condições de laboratório. Os bioensaios testaram as vias de intoxicação por ingestão de folhas contaminadas, contato com superfície contaminada e aplicação tópica, com delineamento experimental inteiramente casualizado, com quatro repetições. Os valores de mortalidade e consumo foliar dos insetos foram submetidos à análise de regressão, sendo utilizada a análise de Probit para determinação das CL_{50} , da DL_{50} e dos TL_{50} . O extrato de *D. amazonica*, contendo 3,7% de rotenona, foi tóxico para adultos de *C. arcuatus* via ingestão de folhas contaminadas ($CL_{50}=15,14 \mu\text{L}$ do extrato. mL^{-1} de água), superfície contaminada ($CL_{50}=0,45 \mu\text{L}$ do extrato. cm^{-2}) e aplicação tópica ($DL_{50}=1,44 \mu\text{L}$ do extrato. g^{-1} do inseto). Mortalidades de adultos de *C. arcuatus* superiores a 80% e os menores tempos letais médios foram obtidos na concentração de 5% (v v^{-1}) do extrato em todos os bioensaios. O consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* foi inversamente proporcional a concentração do extrato quando expostos por via de ingestão foliar ou aplicação tópica, sendo inclusive observada inibição da alimentação dos indivíduos. O extrato de *D. amazonica* é tóxico para *C. arcuatus* e inibe a alimentação dos insetos a partir da concentração de 1% (v v^{-1}).

PALAVRAS-CHAVE: rotenona, toxicidade, inseticidas botânicos.

Insecticide action of the extract of *Derris amazonica* Killip for *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae)

ABSTRACT

The abundance and insecticidal potential of *Derris amazonica* in addition to need of controlling *Cerotoma arcuatus* for bean crop stimulated this research. The objective of this work was to evaluate insecticide action of the extract of *D. amazonica* to adults of *C. arcuatus* in laboratory conditions. The bioassays were carried out using three distend methodologies: leaf intake, contact in treated surface (filter paper) and topical application. A completed randomized experimental design was used with four replications. Mortality values and leaf consumption of the insects were subjected to regression analyses, being the Probit analyses used to determine of the i.e., LC_{50} , LT_{50} and LD_{50} . The extract of *D. amazonica* containing 3.7% of rotenone was toxic to adults *C. arcuatus* when exposed to treated leaves ($LC_{50} = 15.14 \mu\text{L}.\text{mL}^{-1}$), treated surface ($LC_{50} = 0.45 \mu\text{L}.\text{cm}^{-2}$) and subjected to topical exposure ($LD_{50} = 1.44 \mu\text{L}.\text{g}^{-1}$). In all bioassays the adults mortality was higher than 80% with lower median lethal times obtained with 5% (v.v^{-1}) concentrations of the extract. Leaf consumption by adults *C. arcuatus* was inversely proportional to the concentration of the extract when exposed by leaf intake or topical application, also being observed inhibition of feeding individuals. The extract of *D. amazonica* is toxic to *C. arcuatus* and inhibits the feeding of insects from the concentration of 1% (v v^{-1}).

KEYWORDS: rotenone, toxicity, botanical insecticide.

¹ Universidade Federal do Amazonas; Email: mralecio@yahoo.com.br

² EMBRAPA; Email: murilo@cpafac.embrapa.br

³ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia; Email: rcoelho@inpa.gov.br

⁴ EMBRAPA; Email: catani@cpafac.embrapa.br

⁵ EMBRAPA; Email: joelma@cpafac.embrapa.br

⁶ Universidade Federal do Amazonas; Email: suziagro@yahoo.com.br

⁷ Universidade Federal do Amazonas; Email: raquelatu@bol.com.br

⁸ UFERSA; Email: romeufersa@yahoo.com.br

⁹ Universidade Federal do Amazonas; Email: adrianadantas1@yahoo.com.br

INTRODUÇÃO

Inseticidas naturais foram largamente utilizados para o controle de pragas até a década de 40, quando, devido ao incremento das pesquisas com agrotóxicos, os produtos sintéticos passaram a ganhar espaço (Pires, 1978).

Entretanto, a contínua utilização do controle químico, com produtos não seletivos e sem rotação, passou a provocar desequilíbrios populacionais de espécies de insetos-praga, mediante a eliminação de insetos benéficos, explosões populacionais de pragas e, principalmente, perda de eficácia de inseticidas com a seleção de populações resistentes (Kay & Collins, 1987; Campanhola, 1990; Janprasert *et al.*, 1993; Guedes, 1999; Guedes & Fragoso, 1999). Adicionalmente, os inseticidas sintéticos passaram a contaminar o ambiente por persistirem na natureza como resíduos tóxicos muito além do tempo desejado (Ndumu, 1999).

Face aos problemas causados pelos inseticidas sintéticos ao ambiente e ao homem surgiu, nas últimas décadas, a percepção e necessidade de se desenvolver tecnologias e produtos para o controle de insetos-praga que sejam eficientes, seguros, seletivos, biodegradáveis, viáveis economicamente e com aplicabilidade em programas de manejo integrado de pragas (Viegas Júnior, 2002).

Compostos oriundos do metabolismo secundário de plantas despontam como fontes potenciais para a produção de novos inseticidas (Villalobos, 1996) e que podem atender aos requisitos de eficácia, seletividade e biodegradabilidade (Isman, 2006).

O Brasil é um país mega-biodiverso, possui um grande número de ecossistemas, espécies que interagem dentro destes ecossistemas, e de alelos que diferenciam os indivíduos em cada população de cada espécie (Clement, 2001). Neste sentido, a biodiversidade da floresta amazônica destaca-se por apresentar um elevado potencial para a produção de compostos secundários de plantas (Pletsch & Sant'ana, 1995) com ação inseticida.

As espécies de timbó de maior importância pertencem aos gêneros *Derris* e *Lonchocarpus* (Costa *et al.*, 1986; Lima, 1987) e, devido a sua toxicidade apresentam comprovada ação inseticida (Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Pereira & Famadas, 2004; Azevedo *et al.*, 2005) e são utilizadas há várias décadas pelos índios da Amazônia nas pescarias e para o controle de insetos-praga (Hien *et al.*, 2003; Marinos *et al.*, 2004; Kotze *et al.*, 2006). A obtenção, manipulação e aplicação do extrato de timbó é relativamente simples e de baixo custo (Costa *et al.*, 1999), o que poderá viabilizar o seu uso como inseticida natural.

A toxicidade das espécies *Derris* e *Lonchocarpus* é atribuída, principalmente, a rotenona que é um isoflavonóide cristalino, inodoro e insípido, biossintetizado pela via do metabolismo

secundário e que aparece sempre acompanhado de outros compostos flavonóides rotenóides, tais como, deguelina, tefrosina e toxicarol (Lima, 1987; Lima & Costa, 1998). A rotenona causa morte dos animais por meio da inibição da cadeia respiratória mitocondrial, bloqueando a fosforilação do ADP a ATP, sendo peixes e insetos altamente sensíveis (Mascaro *et al.*, 1998).

Diversos trabalhos (Costa *et al.*, 1986; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Azevedo *et al.*, 2005) foram realizados visando ao controle de insetos-praga nas últimas décadas, tanto com extratos desse vegetal quanto com a rotenona, seu principal princípio ativo.

Na região Amazônica brasileira, crisomelídeos do gênero *Cerotoma* têm sido relatados como as principais pragas dos feijoeiros, destacando-se a espécie *Cerotoma arcuatus* Olivier (Coleoptera: Chrysomelidae) como a principal praga do feijão-caupi (*Vigna unguiculata* L. Walp), por atacá-lo desde a semente até a colheita, reduzindo substancialmente sua produtividade (Fazolin & Gomes, 1993; Stone & Sartorato, 1994; Yokoyama, 2006).

Entretanto, não há nenhum produto registrado no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – MAPA para o controle desta praga na cultura do feijão-caupi (MAPA, 2010). Mesmo assim, é comum observar agricultores utilizando inseticidas químicos sintéticos de forma indiscriminada para o controle desses insetos, tais como, beta-ciflutrina (piretróide), imidacloprido (neonicotinóide) e carbosulfano (metilcarbamato de benzofuranila), que são produtos registrados, de acordo com o MAPA (2010), apenas para o controle de *C. arcuatus* na cultura do feijão comum (*Phaseolus vulgaris* L.).

Desse modo, a abundância de *D. amazonica* na região Amazônica, aliada à importância econômica das vaquinhas-do-feijoeiro e a necessidade de se desenvolver métodos alternativos para o controle de pragas estimularam a realização deste estudo, que teve como objetivo avaliar a ação inseticida do extrato de *D. amazonica* à adultos de *C. arcuatus*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos no laboratório de entomologia agrícola do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia – INPA, em Manaus, AM. As raízes das plantas de *D. amazonica* foram coletadas no município de Presidente Figueiredo-AM e os adultos de *C. arcuatus* foram capturados, com rede entomológica, em áreas cultivadas com feijão-caupi.

Processamento e obtenção do extrato de raízes de *D. amazonica*

Raízes de *D. amazonica* foram coletadas em campo, acondicionadas em sacos plásticos escuros e transportadas ao laboratório para processamento. O material vegetal foi lavado,

reduzido a pedaços menores e seco em estufa com circulação de ar forçado, a temperatura de 42 °C por sete dias, até atingir peso constante. Após a secagem foi triturado em moinho tipo faca até ser reduzido a pó.

Para obtenção do extrato, 40 g de pó de raízes de timbó foram colocados em filtro de papel para café e, juntamente com 200 mL de álcool etílico 95% p.a., foram levados ao sistema extrator Soxhlet. Este sistema foi aquecido à temperatura de refluxo do solvente (72 ± 2°C) por um período de cinco horas consecutivas. Em seguida, a solução etanólica foi retirada do sistema Soxhlet e levada ao evaporador-rotativo, durante quarenta minutos, para eliminação do solvente. Posteriormente, o extrato foi acondicionado em recipiente de vidro âmbar fechado e protegido com uma embalagem plástica escura, contra a incidência direta de luminosidade. O extrato foi mantido em geladeira a uma temperatura média de 5°C, até a sua utilização nos bioensaios. O rendimento do extrato em relação à massa vegetal seca das raízes de timbó foi de 3,86 %.

O teor de rotenona do extrato foi quantificado por meio de análise cromatográfica, utilizando-se cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE) Shimadzu®, equipado com bomba de alta pressão LC-10ATVP, válvula de gradiente quaternário, degaseificador de membrana a vácuo, câmara de mistura para alta e baixa pressão, amostrador automático, detector de ultravioleta com fonte de deutério e comprimento de onda fixado a 295 nm, máximo de absorção da rotenona.

A coluna de análise foi a de fase reversa C-18 modelo Shim-pack VP-ODS com 4,6 mm x 25 cm e diâmetro da partícula de 5 µm, mantida a temperatura constante de 25 °C durante toda a análise, em forno de colunas. Foi utilizada como fase móvel uma mistura de acetonitrila (Merck-LiChrosolv®) e água ultrapura obtida em aparelho Millipore® a um fluxo constante de 1 mL por minuto com o seguinte gradiente: início com acetonitrila e água na proporção de 25/75 (v v⁻¹) chegando em 15 minutos a proporção de 80/20 (v v⁻¹), sendo mantida constante por 10 minutos. Antes de cada corrida o sistema foi estabilizado por 10 minutos com acetonitrila/água na proporção de 25/75 (v v⁻¹).

Os padrões com 0,1 a 0,5 mg.L⁻¹ foram preparados por diluição de uma solução estoque de rotenona (1 mg.L⁻¹ em acetonitrila) em fase móvel (acetonitrila/água 1:1 – v v⁻¹). As amostras para análise foram preparadas por agitação (10 minutos) de 3 mL de uma solução de 1 mg.mL⁻¹ do extrato bruto com 200 mg de poliamida-6 (Fluka, 0,25 g.mL⁻¹, tamanho de partícula de 50-160 µm) seguida de filtração em filtro de amostra de 2,5 µm. Todas as amostras foram preparadas protegidas de luminosidade e teor de rotenona presente no extrato de *D. amazonica* foi de 3,71%.

Montagem dos bioensaios

Para todos os procedimentos experimentais foram utilizados insetos padronizados de acordo com a idade e o tamanho (5 ± 1 mm), os quais foram distribuídos em placas de Petri de 7 cm de diâmetro mantidas em câmaras climatizadas, tipo B.O.D., a temperatura de 27 ± 5 °C, fotofase de 12 horas e umidade relativa de 65±10%.

Foram utilizados cinco insetos por placa de Petri para todos os bioensaios; tempo de exposição ao produto de 72, 48 e 72 horas, respectivamente para as vias de intoxicação por ingestão de folhas contaminadas, superfície contaminada (papel-filtro) e aplicação tópica; volume de 2 mL para pulverização (ingestão de folhas contaminadas), 0,7 mL para cada papel-filtro de 7 cm de diâmetro (superfície contaminada) e 1 µL aplicado com auxílio de uma micro-seringa graduada na face ventral do pronoto de cada indivíduo e tempo de três minutos para paralisação dos movimentos dos insetos por congelamento (aplicação tópica). Tais determinações foram obtidas a partir de observações preliminares.

As concentrações do extrato de *D. amazonica* utilizadas nos experimentos foram obtidas por meio de bioensaios para obtenção de uma ampla faixa resposta de mortalidade, ou seja, foram determinadas quais as concentrações do extrato que provocaram baixa (próximo a 0%) e alta (próximo a 100%) mortalidade dos indivíduos, segundo as três formas de exposição dos insetos ao produto.

Para isso, 10 mL da solução-estoque foram diluídos em 40 mL de álcool etílico p.a. Em seguida, essa solução foi diluída em água destilada para os bioensaios de ingestão de folhas contaminadas e superfície contaminada e em acetona p.a. para o bioensaio de aplicação tópica. As proporções utilizadas em todos os casos foram de 0:80, 1:79, 1:39, 1:19, 1:9, 1:5, 1:3 e 1:1 que correspondem, aproximadamente, às concentrações de 0% (controle), 0,25%, 0,5%, 1%, 2%, 3,3%, 5% e 10% (v v⁻¹), respectivamente. Dentro desta faixa de concentrações testadas foram selecionadas seis concentrações do extrato de *D. amazônica*: 0,5%, 1%, 2%, 3%, 4% e 5% (v v⁻¹) que, juntamente com uma testemunha (solvente), formaram os sete tratamentos utilizados nesta pesquisa.

Superfície contaminada (papel-filtro)

Discos de papel-filtro, com 7 cm de diâmetro, foram impregnados com 0,7 mL das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica* e secos ao ar por cerca de 2 minutos. Posteriormente foram colocados em placas de Petri e em seguida infestados com cinco adultos de *C. arcuatus*, que permaneceram sem alimentação, constituindo uma parcela experimental. O delineamento foi inteiramente casualizado com quatro repetições, sendo avaliada a mortalidade dos indivíduos a cada oito horas, durante 48 horas.

Cada bioensaio foi repetido três vezes e os valores de mortalidade dos insetos foram corrigidos pela mortalidade da testemunha, utilizando-se a fórmula de Abbott (1925). Esses valores foram submetidos à análise de Probit, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 1989).

Foram determinadas as curvas de concentração-mortalidade com probabilidade de causar 50% de mortalidade (CL_{50}), de acordo com a metodologia descrita por Finney (1971).

Aplicação tópica

Adultos de *C. arcuatus* foram imobilizados por congelamento em freezer (-16 °C) por três minutos e receberam, por meio de uma micro-seringa graduada, 1 µl das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica* na face ventral do pronoto. No tratamento controle foi aplicado em cada inseto apenas o solvente (acetona). Em cada placa de Petri foram mantidos cinco insetos adultos, que receberam como alimento, diariamente, uma folha de feijão-caupi livre de quaisquer contaminantes químicos, previamente mergulhadas por dois segundos em hipoclorito de sódio a 1%, com a finalidade de eliminar além da poeira, microorganismos indesejáveis.

O procedimento experimental foi o mesmo adotado para avaliação do efeito por contato em superfície contaminada, sendo avaliada a mortalidade dos insetos a cada 12 horas, durante 72 horas de duração dos experimentos. De posse dos dados diários de mortalidade foram determinadas a dose letal média (DL_{50}) e o tempo letal médio (TL_{50}) das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica*. Além disso, foi avaliado o consumo médio diário dos insetos sobreviventes em folhas de feijão-caupi, por meio da medição da área foliar remanescente, utilizando-se o integrador de área foliar ADC AM-200 (ADC BioScientific Ltd.).

As parcelas experimentais, número de repetições, delineamento estatístico e procedimentos para análise visando o cálculo da DL_{50} e TL_{50} seguiram a metodologia descrita para avaliação do efeito por contato com superfície contaminada.

2.2.3 Ingestão de folhas contaminadas

Folhas de feijão-caupi, livres de contaminantes químicos, foram padronizadas de acordo com o tamanho ($7,0 \pm 1,0$ cm de comprimento) e coloração (verde claro). Em seguida, foram mergulhadas em hipoclorito de sódio a 1% e em água destilada por dois segundos, com a finalidade de eliminar poeira e microrganismos indesejáveis, sendo depositadas sobre papel toalha para eliminação do excesso da solução desinfetante.

Posteriormente, utilizando-se pulverizadores manuais com capacidade para 500 mL, ajustados para liberação uniforme do produto, quatro folhas de feijão-caupi foram pulverizadas a uma distância média de 35 cm, com 2 mL das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica*, distribuídos nas duas faces das folhas. No tratamento controle, as folhas foram pulverizadas apenas com água destilada. Cada folha teve seu

pecíolo envolvido por um chumaço de algodão umedecido em água destilada, visando evitar o ressecamento, sendo transferida para uma placa de Petri e infestada com cinco adultos de *C. arcuatus*, constituindo uma parcela experimental.

Foi adotado o mesmo procedimento experimental utilizado para avaliação do efeito por contato com superfície contaminada, sendo avaliada a mortalidade dos insetos a cada 12 horas, durante 72 horas de duração dos bioensaios. Com os dados diários de mortalidade dos indivíduos foram determinadas a concentração letal média (CL_{50}) e o tempo letal médio (TL_{50}) das diferentes concentrações do extrato de *D. amazônica*. O consumo foliar médio diário dos insetos sobreviventes foi determinado seguindo-se a mesma metodologia utilizada para avaliação do efeito com aplicação tópica.

O delineamento estatístico, as parcelas experimentais, número de repetições e procedimentos para análise visando o cálculo da CL_{50} e TL_{50} seguiram a metodologia descrita para avaliação do efeito por contato em superfície contaminada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A mortalidade de adultos de *C. arcuatus* por aplicação tópica do extrato de *D. amazônica* foi maior (85%) na concentração de 5% ($v v^{-1}$) e inferior a 11% nas concentrações de 0,5% e 1% ($v v^{-1}$). As concentrações de 3% e 4% ($v v^{-1}$) apresentaram valores de mortalidades intermediárias de 50% e 65%, respectivamente (Figura 1).

Quando expostos ao extrato de *D. amazônica* por contato em superfície contaminada, nas concentrações de 0,5%, 1% e 2% ($v v^{-1}$), os valores de mortalidade de *C. arcuatus* permaneceram abaixo de 41%. Nas maiores concentrações 4% e 5% ($v v^{-1}$) os valores de mortalidade observados foram de 70% e 90%, respectivamente (Figura 1).

No bioensaio de intoxicação por ingestão de folhas contaminadas observaram-se valores médios de mortalidade de 50% dos insetos na concentração de 2% ($v v^{-1}$). Mortalidades superiores a 84% foram verificadas a partir da concentração de 3% ($v v^{-1}$) do extrato, com destaque para a concentração de 5% ($v v^{-1}$) que provocou 100% de mortalidade dos indivíduos (Figura 1).

Adultos de *C. arcuatus* são mais sensíveis ao extrato de *D. amazônica* quando ingerem folhas contaminadas, seguido pelas vias de superfície contaminada e aplicação tópica. Essas tendências foram mantidas na determinação toxicológica (Tabela 1), onde foram observados valores das concentrações letais calculadas pelas vias de intoxicação por ingestão de folhas contaminadas ($CL_{50} = 15,14 \mu\text{L do extrato.mL}^{-1}$ de água) e superfície contaminada ($CL_{50} = 0,45 \mu\text{L do extrato.cm}^{-2}$) e valor da dose letal calculada por aplicação tópica ($DL_{50} = 1,44 \mu\text{L do extrato.g}^{-1}$ do inseto), indicando que o extrato de *D. amazônica* foi tóxico para adultos de *C. arcuatus*. As concentrações equivalentes às CL_{50} foram de 1,5% ($v v^{-1}$)

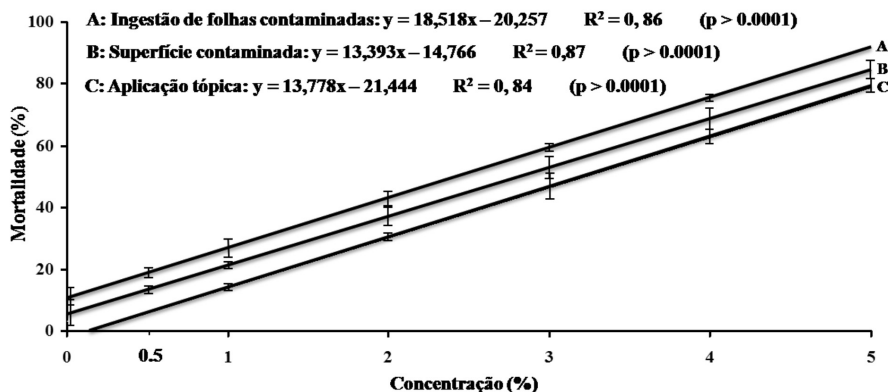


Figura 1 - Ação inseticida do extrato de *D. amazonica* para adultos de *C. arcuatus* por ingestão de folhas contaminadas, superfície contaminada e aplicação tópica.

Tabela 1 - Ação inseticida do extrato de *D. amazonica* para adultos de *C. arcuatus* por ingestão de folhas contaminadas, superfície contaminada e aplicação tópica.

Intoxicação	GL	n	Inclinação \pm EP	CL ₅₀ (IC 95%)	DL ₅₀ (IC 95%)	χ^2	Prob.
Ingestão de folhas contaminadas	6	420	0,95 \pm 0,04	15,14* (11,46 – 19,03)	–	7,79	0,10
Superfície contaminada	6	420	0,72 \pm 0,05	0,45** (0,39 – 0,53)	–	6,11	0,19
Aplicação tópica	6	420	1,03 \pm 0,06	–	1,44*** (1,28 – 1,62)	2,89	0,41

GL: graus de liberdade; n: número de insetos usados no bioensaio; EP: erro-padrão da média; CL₅₀ e DL₅₀: concentração e dose letal, respectivamente; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; χ^2 : qui-quadrado; Prob.: probabilidade; *CL₅₀: μL do extrato. mL^{-1} de água; **CL₅₀: μL do extrato. cm^{-2} ; ***DL₅₀: μL do extrato. g^{-1} do inseto.

para ingestão de folhas contaminadas e 2,5% ($v v^{-1}$) para superfície contaminada e para DL₅₀ foi de 2,9% ($v v^{-1}$) por aplicação tópica.

Os valores das inclinações das curvas de concentração-mortalidade (ingestão de folhas contaminadas e superfície contaminada) e dose-mortalidade (aplicação tópica) (Tabela 1) evidenciaram que adultos de *C. arcuatus* respondem ao extrato de *D. amazonica* pelas três vias de intoxicação. Altos valores de inclinação da curva indicam que pequenas variações na dose do extrato promovem grandes variações na mortalidade dos insetos, resultando em resposta homogênea da população (Atkins *et al.*, 1973).

Resultados semelhantes foram obtidos por Alecio *et al.* (2005), que obtiveram CL₅₀ de 1,8% ($v v^{-1}$) quando avaliaram o potencial inseticida do extrato de *Derris rariflora* Macbride sobre *Sitophilus zeamais* Mots (Coleoptera: Curculionidae) pela via de intoxicação de superfície contaminada (papel-filtro). Correa (2006) determinou a toxicidade do extrato de *Lonchocarpus floribundus* Benth em *Toxoptera citricidus* Kirkaldy (Sternorrhyncha: Aphididae) por meio de pulverização, sendo a CL₅₀ de 1,8% ($v v^{-1}$).

O extrato de *D. amazonica* apresentou elevada toxicidade a adultos de *C. arcuatus* em todas as vias de intoxicação avaliadas, confirmando o potencial inseticida dos timbós (*Derris*) relatado por diversos pesquisadores nas últimas décadas (Lima & Costa, 1998; Costa *et al.*, 1999; Luitgards-Moura *et al.*, 2002; Hien *et al.*, 2003; Pereira & Famadas, 2004; Azevedo *et al.*, 2005; Correa, 2006; Kotze *et al.*, 2006).

O efeito tóxico dos timbós está relacionado principalmente ao teor de rotenona (Crombie & Whiting, 1998; Fazolin *et al.*, 2002; Marinos *et al.*, 2004; Kotze *et al.*, 2006), cujo valor determinado pela análise cromatográfica foi de 3,7% no extrato utilizado no presente estudo.

Insetos intoxicados por rotenona apresentam diminuição do consumo de oxigênio, redução da taxa de respiração e ataques que provocam convulsões e conduzem, finalmente, a paralisias e morte por parada respiratória (Goodman & Gilman, 1985 e Silva, 2002) Sintomas semelhantes a estes foram obtidos nos resultados deste trabalho, principalmente quando utilizadas maiores concentrações do produto (3%, 4% e 5% $v v^{-1}$), sugerindo ser este princípio ativo o principal constituinte tóxico do extrato de *D. amazonica* para *C. arcuatus*.

Os resultados apontaram a intoxicação por ingestão de folhas contaminadas como a via causadora da maior toxicidade para adultos de *C. arcuatus*, em todas as concentrações do extrato de *D. amazonica*, quando comparadas às mesmas concentrações utilizadas no bioensaio de intoxicação por aplicação tópica (Figura 1). Isso pode ter ocorrido pelo fato de, no primeiro caso, os insetos ficarem expostos simultaneamente ao contato tarsal e ingestão do produto tóxico. Segundo Gosselin (1984) estes dois efeitos, progressivamente, são os principais modos de ação pelo qual a rotenona causa toxidez para insetos.

Silva (2002) relatou que a rotenona é tóxica para insetos por ingestão e contato, reunindo, de acordo com Cravero *et al.* (1976), duas formas de intoxicação usadas para controlar insetos-praga (contato e ingestão). Desse modo, a presença desta substância no extrato de *D. amazonica* poderia justificar a maior toxicidade observada nos bioensaios de ingestão de folhas contaminadas.

O consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* quando alimentados com folhas contaminadas foi menor que aquele obtido nas mesmas concentrações do extrato de *D. amazonica* por aplicação tópica (Figura 2). Entretanto, nestas duas condições, as maiores concentrações do extrato provocaram os menores valores de consumo foliar dos insetos. Estes valores foram de 2,0 cm² e 1,8 cm² por aplicação tópica e de 0,5 cm² e 0,4 cm² por ingestão de folhas contaminadas, respectivamente para as concentrações de 4% e 5% (v v⁻¹) do produto.

Adultos de *C. arcuatus* consumiram uma maior área foliar nas primeiras 24 horas dos experimentos independente da forma de exposição ao inseticida botânico, sendo que os indivíduos sobreviventes reduziram, gradativamente, o consumo alimentar com o tempo. Reduções bruscas no consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* foram observadas quando os mesmos ingeriram folhas contaminadas, principalmente, nas maiores concentrações do extrato (3%, 4% e 5% v v⁻¹), ficando os indivíduos sem se alimentarem nas últimas 12 horas de experimentação.

Esses resultados apontaram a ocorrência de inibição de alimentação dos insetos a partir da concentração de 1% do extrato de *D. amazonica* nas duas vias de intoxicação testadas (aplicação tópica e ingestão de folhas contaminadas), semelhantemente aos efeitos causados pela rotenona extraída dos timbós *D. elliptica* Benth e *D. urucu* Macbride, relatados, respectivamente nos trabalhos de Nawnot *et al.* (1987) e Fazolin *et al.* (2002).

A inibição da alimentação de adultos de *C. arcuatus* observada no presente estudo pode estar relacionada à ocorrência de distúrbios fisiológicos, resultante da toxicidade da rotenona presente no extrato de *D. amazonica*, uma vez que, nas concentrações de 2%, 3%, 4% e 5% v v⁻¹ (ingestão de folhas contaminadas) e 3%, 4% e 5% v v⁻¹ (aplicação tópica) foram obtidos valores diários de consumo menores que 1,4 cm², abaixo deste determinado por Fazolin & Estrela (2004) para *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae), em feijoeiro cv. Pérola.

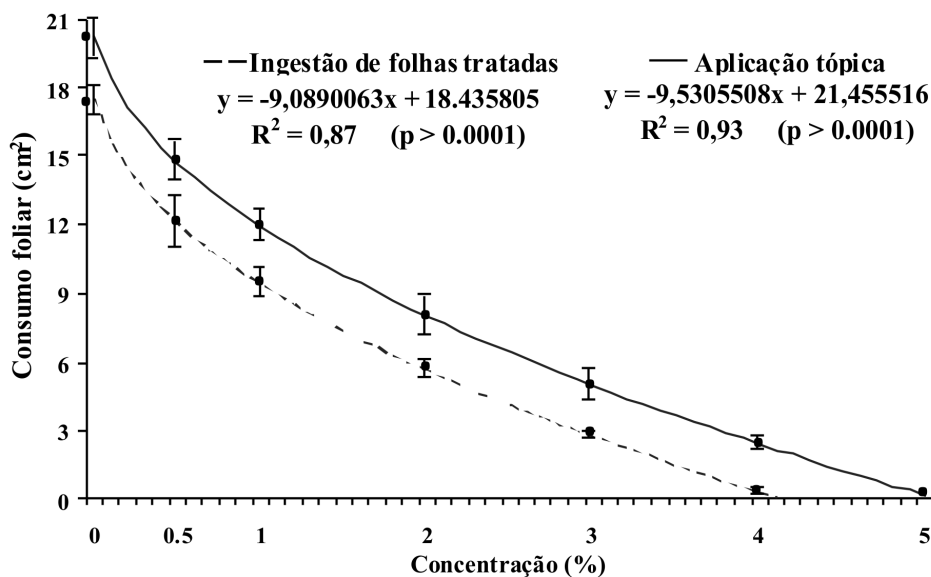


Figura 2 - Consumo foliar de adultos de *C. arcuatus* submetidos ao extrato de *D. amazonica* em diferentes concentrações pelas vias de aplicação tópica e ingestão de folhas contaminadas.

De acordo com Goodman & Gilman (1985) a vitamina K3 (menadiona) pode ativar uma rota metabólica alternativa que evita o sítio bloqueado pela ação da rotenona na respiração, o que permite a retomada do transporte de elétrons e respiração celular dos insetos.

Quando adultos de *C. arcuatus* foram expostos ao extrato de *D. amazonica* por aplicação tópica, receberam para alimentação folhas de feijão-caupi, livres de contaminantes, contendo vitamina k3 conforme Damon *et al.* (2005), Fugesp (2010) e USDA (2010). Isso pode ter aumentado a capacidade de detoxificação dos indivíduos, principalmente nas menores concentrações do extrato (1%, 2% e 3% v v⁻¹). Nestas concentrações, poucas horas após o início dos experimentos, foram observadas significativas reduções na mortalidade dos insetos, o que poderia justificar a hipótese levantada.

Por outro lado, insetos expostos por contato em superfície contaminada sem oferta de alimento podem ter tido uma redução da capacidade de detoxificação, pois mortalidade foi observada durante todo o período de avaliação em todas as concentrações do extrato de *D. amazonica*.

Os tempos letais médios (TL₅₀) do extrato de *D. amazonica* para adultos de *C. arcuatus*, obtidos pela análise de Probit, apresentam coeficientes angulares positivos, indicando

acréscimos nos valores de mortalidade com o tempo de exposição nos três bioensaios (Tabela 2). Entretanto, os menores valores de TL₅₀ foram obtidos no bioensaio de ingestão de folhas contaminadas, seguido pelas vias de superfície contaminada e aplicação tópica. Nestas condições, as maiores concentrações do produto apresentaram os menores valores de tempos letais. Na concentração de 5% (v v⁻¹) do extrato esses valores variaram de 13,95 a 22,46 horas, em todas as vias de intoxicação.

Resultado semelhante foi obtido por Ribeiro & Correa (2005), que encontraram o valor de TL₅₀ de 15 horas para concentração tóxica (3,1% v v⁻¹) do extrato de *L. floribundus* para *Aethalion* sp. (Hemiptera: Aethalionidae).

Por ter apresentado os maiores valores de mortalidade e os menores valores de consumo foliar, além dos menores tempos letais médios (TL₅₀), pode-se inferir que a intoxicação por ingestão de folhas contaminadas com extrato de *D. amazonica* causou maior toxicidade para *C. arcuatus*.

Contudo, por ter sido tóxico em diferentes níveis, pelas três formas de exposição testadas, o extrato de *D. amazonica* apresenta-se como uma alternativa promissora para ser incluído no manejo integrado de *C. arcuatus* em áreas cultivadas com feijão-caupi na Amazônia brasileira.

Tabela 2 - Tempo letal médio (TL₅₀) em horas do extrato de *D. amazonica* a adultos de *C. arcuatus* em diferentes concentrações, expostos pelas vias de superfície contaminada, aplicação tópica e ingestão de folhas contaminadas.

Intoxicação	Concentração	Inclinação ± EP	TL ₅₀ (IC 95%)	χ ²	Prob.
Superfície contaminada	3%	0,48±0,04	44,07 (34,3 – 68,6)	1,07	0,90
	4%	0,64±0,05	29,32 (24,68 – 35,86)	0,20	0,99
	5%	0,65±0,06	13,95 (10,46 – 16,96)	0,99	0,91
Aplicação tópica	3%	0,61±0,07	48,91 (38,54 – 78,26)	0,15	0,93
	4%	0,62±0,07	33,63 (26,85 – 46,60)	1,58	0,45
	5%	0,70±0,05	22,46 (17,31 – 27,09)	0,60	0,89
Ingestão de folhas contaminadas	2%	0,51±0,04	68,52 (54,32 – 102,37)	0,22	0,99
	3%	0,92±0,05	31,78 (27,74 – 35,92)	3,95	0,41
	4%	0,74±0,05	20,00 (15,72 – 23,78)	3,80	0,43
	5%	0,70±0,05	15,17 (11,53 – 18,34)	4,24	0,37

EP: erro-padrão da média; TL₅₀: tempo letal; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; X²: qui-quadrado; Prob.: probabilidade.

CONCLUSÃO

O extrato de *D. amazonica* é tóxico para adultos de *C. arcuatus*, sendo que a via de ingestão de folhas contaminadas é a mais efetiva, seguida pelo contato com superfície contaminada e aplicação tópica;

Extrato de *D. amazonica* inibe a alimentação de adultos de *C. arcuatus* a partir da concentração de 1%, independente do tipo de exposição do inseto a esse inseticida.

BIBLIOGRAFIA CITADA

- Abbott, W.S. A. 1987. Method of computing the effectiveness of an insecticide. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 3: 302-303.
- Alecio, M. R., Alves, S. B., Gonzaga, A. D., Ribeiro, J. D., Correa, R. S. 2005. Evaluation of insecticidal potential in vitro of aqueous extract of the roots of timbo (*Derris rariflora*) on *Sitophilus zeamais* Mots In: I Jornada Amazonense de Plantas medicinais. Manaus. *Anais da I Jornada Amazonense de Plantas medicinais*, p. 42 (in Portuguese).
- Atkins, E.L.; Greywood, E.A.; Macdonald, R.L. 1973. *Toxicity of pesticides and other agricultural chemicals to honey bees: laboratory studies*, 36pp.
- Azevedo, F. R.; Guimarães, J. A.; Braga Sobrinho, R.; Lima, M. A. A. 2005. Efficiency of natural products to control *bemisia tabaci* biotype b (hemiptera: aleyrodidae) on melon plant. *Revista Arquivos do Instituto Biológico*, 72(1): 73-79 (in Portuguese, with abstract in English).
- Campanhola, C. 1990. *Insect resistance to insecticides: the importance, characteristics and management*. Jaguariúna: EMBRAPA-CNPDA, 45 pp (in Portuguese).
- Clement, C.R. 2001. Improvement of native species. In: Nass, L.L.; Valois, A.C.C.; Melo, I.S.; Valadares-Inglis, M.C. (Eds.). *Recursos genéticos & melhoramento de plantas*. Fundação de Apoio à Pesquisa Agropecuária de Mato Grosso - Fundação MT, Rondonópolis, MT, p. 423-441 (in Portuguese).
- Correa, R. S. 2006. *Toxicity of extracts from Lonchocarpus floribundus Benth (timbo) on Toxoptera citricida Kirkald (black citrus aphid) (Sternorrhyntha: Aphididae)*. Dissertação de Mestrado, Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/Fundação Universidade do Amazonas, Manaus, Amazonas. 71pp (in Portuguese).
- Costa, N. A.; Nascimento, C. N. B.; Moura Carvalho, L. O. D.; Pimentel, E. S. 1986. Use of timbo urucu (*Derris urucu*) in the control of lice (*Haemotopinus tuberculatus*) in buffalo. Belém: EMBRAPA CPATU, 16 p. (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 78) (in Portuguese).
- Costa, R.C.L.; Cardoso, B.B.; Silva, J.T.; Gomes Filho, J.G.F.; Silveira, J.A.G. 1996. Water stress strongly decreases the uptake of nitrate and nodulation in bean (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) In: *Reunião Nacional de Pesquisa de Caupi*, p. 78-79 (in Portuguese).
- Costa, J. P. C.; Alves, S. M.; Belo, M. 1999. Differences among Timbo (*Derris* spp., Fabaceae) Species from Different Amazonian Regions in the control of *Musca domestica* L. *Acta Amazônica*, 29(4): 573-583 (in Portuguese).
- Cravero, E. S.; Guerra, M de S., Silveira, C. P. D. 1976. *Manual de inseticidas e acaricidas: aspectos toxicológicos*, Pelotas: Aimara, 229 pp (in Portuguese).
- Crombie, L.; Whiting, A.D. 1998. Biosynthesis in the rotenoid group of natural products: applications of isotope methodology. *Phytochemistry*, 49(6): 1479-1507.
- Damon, M.; Zhang, N. Z.; Haytowitz, D. B.; Booth, S. L. 2005. Phylloquinone (vitamin K₁) content of vegetables. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18: 751-758.
- Fazolin, M.; Gomes, T.C.A. 1993. Population dynamics of *Cerotoma tingomarianus* Bechyné in cowpea and kudzu in Rio Branco, Acre. *Anais da Sociedade Entomológica do Brasil*, 3(22): 491-495 (in Portuguese).
- Fazolin, M. 2002. Evaluation of plants with insecticide to control the cow-the-bean. Rio Branco: EMBRAPA-CPAFAC, 42p (Boletim de Pesquisa e Desenvolvimento, 37) (in Portuguese).
- Fazolin, M.; Estrela, J. L. V. 2004. Determination of the economic injury level of *Cerotoma tingomarianus* Bechyné (Coleoptera: Chrysomelidae) on *Phaseolus vulgaris* L. cultivar Pérola (Coleoptera: Chrysomelidae). *Neotropical Entomology*, 33: 1-7 (in Portuguese, with abstract in English).
- Finney, D. J. 1971. *Probit analysis*. 3. th. New Delhi: Cambridge University Press, 333pp.
- Fugesp, 2009. *Bulário: suplementação vitamínica* (www.fugesp.org.br/fugesp_bulario.asp), acesso: 27/05/10.
- Goodman, L. S.; Gilman, A. G. 1985. *The Pharmacological Basis of Therapeutics*. 7th ed. New York, Toronto, London: Macmillan, p. 1839-1856.
- Gosselin, R. E. 1984. *Clinical Toxicology of Commercial Products*. 5th ed. Baltimore/London: Williams & Wilkins, p.111-367.
- Guedes, R.N.C. 1999. Insect resistance to insecticides . In: Zambolim, L. *I Encontro sobre manejo de doenças e pragas*. Viçosa: UFV, p. 101-107 (in Portuguese).
- Guedes, R. N. C.; Fragoso, D. B. 1999. Insecticide resistance: Bases general, situation and reflections on the phenomenon in insect pest of coffee. In: *Encontro sobre produção de café com qualidade*. Viçosa, Minas Gerais, p. 99-120 (in Portuguese).
- Hien, P.P.; Gortnizka, H.; Kraemer, R. 2003. Rotenone – potential and prospect for sustainable agriculture. *Omonrice*, 11: 83-92.
- Isman, M.B. 2006. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. *Annual Review of Entomology*, 51: 45-66.
- Janprasert, J.; Satasook, C.; Sukumalanand, P.; Champagne, D. E.; Kay, I. R.; Collins, P. J.; 1993. The Problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. *Insect Science and its Applications*, 8: 715-721.
- Kay, I. R.; Collins, P. J. 1987. The Problem of resistance to insecticides in tropical insect pests. *Insect Science and its Applications*, 8: 715-721.
- Kotze, A. C.; Dobson, R.J.; Chandler, D. 2006. Synergism of rotenone by piperonyl butoxide in *Haemonchus contortus*

- and *Trichostrongylus colubriformis* in vitro: Potential for drug-synergism through inhibition of nematode oxidative detoxification pathways. *Veterinary Parasitology*, 136: 275-282.
- Lima, R. R. 1987. Information on two species of timbo: *Derris urucu* (Killip *et al* Smith) Macbride e *Derris nicou* (Killip *et* Smith) Macbride as insecticides plants. Belém: EMBRAPA CPATU, 23 p. (Documentos, 42) (in Portuguese).
- Lima, R. R.; Costa, J. P. C. 1998. Collecting plants from pre Columbian culture in the Brazilian Amazon. Belém: EMBRAPA CPATU, 148 p. (Documentos, 99) (in Portuguese).
- Luitgards-Moura, J. F.; Bermudez, E. G. C.; Rocha, A. F. I.; Tsouris, P.; Rosa-Freitas, M. G. 2002. Preliminary Assays Indicate that *Antonia ovata* (Loganiaceae) and *Derris amazonica* (Papilionaceae), Ichthyotoxic Plants Used for Fishing in Roraima, Brazil, Have an Insecticide Effect on *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. Rio de Janeiro, RJ, 97(5): 737-742 (in English).
- Marinos, C.; Castro, J.; Nongrados, D. 2004. Biocidal effect del barbasco *Lonchocarpus utilis* (Smith, 1930) as regulator of mosquitos larvae. *Revista Peruana de Biología*, 11(1): 87-94 (in Spanish, with abstract in English).
- MAPA, 2010. Agrofit. (<http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofitcons/principalagrofitcons>), acesso: 04/04/10.
- Mascaro, U. C. P.; Rodrigues, L. A.; Bastos, J. K.; Santos, E.; Costa, J. P. C. 1998. LD₅₀ in fish and rat produced by powdered roots of *Derris spp* and ecotoxicological implications. *Pesquisa Veterinária Brasileira*, 18(2): 53-56 (in Portuguese, with abstract in English).
- Nawnot, J., Harmatha, J., Bloszy, E. 1987. Secondary plant metabolites with antifeeding activity and their effects on some stored product insects. In: *Internacional Working Conference on Stored – Product Protection*. Donahaye, p. 591-597.
- Ndumu, P. A. 1999. *Agrochemical from Natural Products*. Phytoter. Res, New York, p. 532-548.
- Pereira, J.R.; Famadas, K.M. 2004. Evaluation “in vitro” of the efficiency of timbo root extract (*Dahlstedtia pentaphylla*) (Leguminosae, Papilionoideae, Millettiedae) on *Boophilus microplus* (Canestrini, 1887) in the Paraíba Valley region – São Paulo, Brazil. *Arquivos do Instituto Biológico*. São Paulo, 71(4): 443-450 (in Portuguese, with abstract in English).
- Pires, J. M. 1978. Ichthyotoxic plants – botanical aspects. *Ciência e Cultura*. 32: 37-41 (in Portuguese).
- Pletsch, M.; Sant’ana, A. E. G. 1995. Secondary compound accumulation in plants-The application of plant biotechnology to plant improvement. *Chemistry of Amazon*, 5: 51-64.
- Ribeiro, J. D.; Correa, R. S. 2005. Use of *Lonchocarpus floribundus* (Timbo) on spittlebugs fruit (*Aethalion sp.*) in greenhouse. In: *XIV Congresso Brasileiro de Toxicologia*. Recife-Pe, p. 306 (in Portuguese).
- SAS Institute. 1989. SAS User’s Guide: Statistics. *SAS Institute*, 12(8).
- Silva, G., A. Lagunes, J. C. Rodríguez y D. Rodríguez. 2002. Vegetable Insecticides: A New-Old Option in Pest Management. *Revista Manejo Integrado de Plagas*, 2(3): 21-56 (in Spanish, with abstract in English).
- Stone, L.F.; Sartorato, A. 1994. *The cultivation of beans: technical recommendations*. Brasília: EMBRAPA-CNPAP, 83p. (Documentos, 48) (in Portuguese).
- Viegas Júnior, C. J. 2003. Terpenes with insecticidal activity: an alternative to chemical control of insects. *Química Nova*, 26(3): 390-400 (in Portuguese, with abstract in English).
- USDA, 2010. National Nutrient Database for Standard Reference, Release 20 (<http://www.nal.usda.gov/fnic/foodcomp/Data/SR20/nutrlist/sr20w430.pdf>), acesso: 27/05/10.
- Villalobos, M. J. P. 1996. *Plaguicidas naturales de origen vegetal: Estado actual de la investigacion*. Madrid: Ministerio de Agricultura, Pesca Y alimentacion. Monografias INIA, 35 pp.
- Yokoyama, M. 2006. Pests. In: Vieira, C.; Paula Junior, T. J.; Borém, A. (Eds). *Bean*: 2nd edition updated and expanded. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, Minas Gerais, p. 345-346 (in Portuguese).

Recebido em 27/01/2010

Aceito em 03/07/2010

