

## Acción biocida de plantas de *Piper tuberculatum* Jacq. sobre *Diatraea saccharalis* (Lepidóptera, Pyralidae)

### Biocid action of *Piper tuberculatum* Jacq. against *Diatraea saccharalis* (Lepidóptera, Pyralidae)

Gladys V. Soberón<sup>1</sup>, Consuelo Rojas<sup>1</sup>, Jorge Saavedra<sup>2</sup>, Massuo J. Kato<sup>3</sup> y Guillermo E. Delgado<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Facultad de Ciencias Biológicas, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Ciudad Universitaria, Juan XXIII No 391, Lambayeque-PERU.

Email: Guillermo Delgado  
guidelg2001@yahoo.es

<sup>2</sup> Facultad de Agronomía, Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo.

<sup>3</sup> Instituto de Química, Universidade de São Paulo, CP 26077, 05508-900 São Paulo, SP, Brasil.

Presentado: 27/01/2006

Aceptado: 13/07/2006

#### Resumen

En el presente trabajo evaluamos la acción biocida sobre larvas del III estadio de *Diatraea saccharalis*, usando extractos acuoso, diclorometano-metanol (DCM:MeOH, 2:1) y alcohólico (EtOH, 96%) de hojas, tallos y espigas maduras (con frutos y semillas) de *Piper tuberculatum*, en larvas del III estadio. El método de inoculación del extracto, previamente eluido con agua destilada, fue de aplicación tópica en el mesotorax de las larvas. Solamente los extractos DCM:MeOH y EtOH de espigas maduras y extracto DCM:MeOH de plantas *in vitro* mostraron niveles significativos de mortalidad larval. El mayor efecto tóxico correspondió a extractos de espigas maduras respecto a plantas *in vitro* y a extracto EtOH respecto a extracto DCM:MeOH, tal como lo expresan los resultados de las concentraciones letales a 50% (CL<sub>50</sub>) y 90% (CL<sub>90</sub>), en 72 h de exposición. Así tenemos que en el caso de espigas maduras fue: CL<sub>50</sub> 0,11 mg/mL con EtOH y 0,16 mg/mL con DCM:MeOH) y CL<sub>90</sub> (0,35 mg/mL con EtOH y 0,55 mg/mL con DCM:MeOH); en el caso de plantas *in vitro*, únicamente con DCM:MeOH, fue: CL<sub>50</sub> 0,39 mg/mL y CL<sub>90</sub> 2,62 mg/mL. Los resultados de las rectas valores probitos-mortalidad expresaron la misma tendencia.

**Palabras claves:** Concentración letal, extracto DCM:MeOH, extracto EtOH, propagación *in vitro*, susceptibilidad larval

#### Abstract

The biocid action of DCM:MeOH (2:1), EtOH and aqueous extracts of leaves, stems and mature spikes (with fruits and seeds) of field plants and DCM:MeOH (2:1) extract of *in vitro* plants of *Piper tuberculatum* on III larval stage of *Diatraea saccharalis* was evaluated. The method was by inoculating the previously eluted extract with distillate water as topic applications on the larval mesothorax. Only DCM:MeOH and EtOH extracts of mature spikes and DCM:MeOH extract of *in vitro* plants showed significant levels of larval mortality. The corresponding highest toxic effect was (a) for mature spikes respect to *in vitro* plants and (b) EtOH extract respect to DCM:MeOH extract, according to the results showed for the lethal concentration to 50% (LC<sub>50</sub>) and 90% (LC<sub>90</sub>), in 72 hours of exposure. Thus, in the case of mature spikes was: LC<sub>50</sub> 0,11 mg/mL with EtOH and 0,16 mg/mL with DCM:MeOH) and LC<sub>90</sub> (0,35 mg/mL with EtOH and 0,55 mg/mL with DCM:MeOH); and, in the case of *in vitro* plants, only with DCM:MeOH extract, was: LC<sub>50</sub> 0,39 mg/mL and LC<sub>90</sub> 2,62 mg/mL. The results of probit values-mortality lines showed the same tendency.

**Keywords:** Lethal concentration, DCM:MeOH (2:1) extract, EtOH extract, *in vitro* propagation, larvicidal susceptibility.

#### Introducción

*Diatraea saccharalis* (Lepidóptera, Pyralidae) («borer, cañero, barrenador o taladro de la caña de azúcar») es considerada entre las plagas de insectos más importantes que afectan diversos cultivos a nivel mundial. En el Perú, se estima que más del 30% de la cosecha de maíz se pierde por el ataque de ambas plagas; asimismo, valores significativos de pérdidas también ocurren con otros cultivos como la caña de azúcar, el sorgo y diversas especies hortícolas (Sarmiento y Rázuri, 1978).

Diversos metabolitos secundarios han sido aislados de especies del género *Piper* destacando los lignanos, neolignanos, alcaloides, chalconas, kawapironas, flavonas, aceites esenciales, amidas, entre otros (Sengupta y Ray, 1987; Parmar et al., 1997). *Piper tuberculatum*, «matico», es ampliamente distribuida en América desde Brasil hasta México, de ella han sido aisladas e identificadas siete amidas extraídas de las semillas con DCM:MeOH, de las cuales dos resultaron amidas isobutilicas y cinco piperidínicas (Navickiene et al., 2000). Todas estas amidas

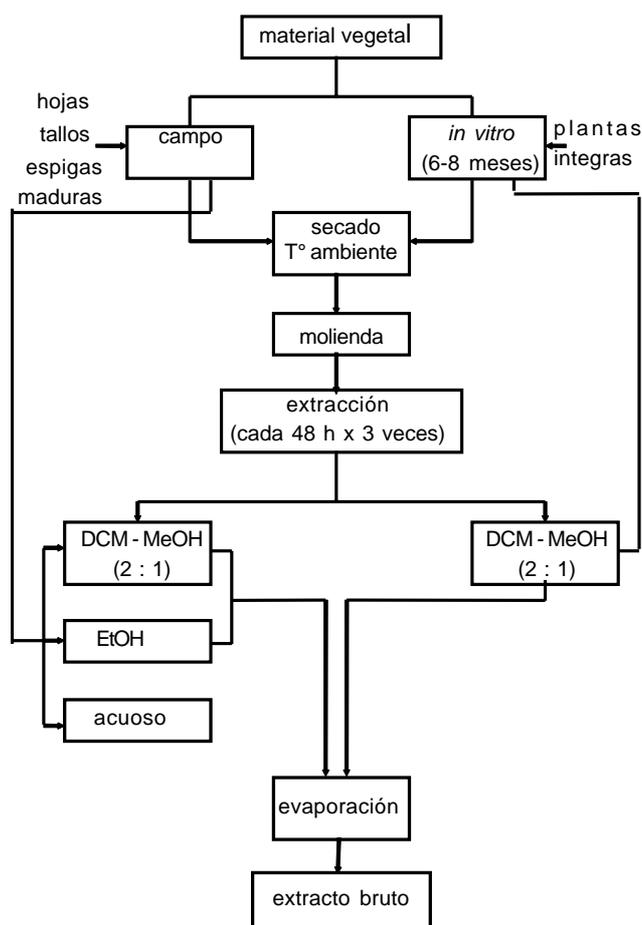
fueron ensayadas individualmente contra *Cladosporium sphaerospermum*, resultando que la cantidad mínima requerida para inhibir el crecimiento del hongo se encontraba en el rango de 0,1 a 5 mg (Navickiene et al., 2000) y contra *C. cladosporioides* en el rango 5 a 10 mg (Silva et al., 2002).

El presente trabajo tuvo como objetivo evaluar la acción biocida y los niveles de susceptibilidad de extractos DCM:MeOH (2:1), EtOH y acuoso de hojas, tallos y espigas maduras (con frutos y semillas) de plantas silvestres y extracto de DCM:MeOH (2:1) de plantas *in vitro* de *Piper tuberculatum* sobre larvas del III estadio del «borer» *Diatraea saccharalis*.

#### Material y métodos

##### Material biológico

El material botánico estuvo constituido por hojas, tallos y espigas maduras (con frutos y semillas) de *Piper tuberculatum* Jacq. colectadas de plantas adultas a orillas del Río Cumbil, pro-



**Figura 1.** Procedimiento seguido en la obtención de extractos a partir de plantas silvestres e *in vitro* de *P. tuberculatum*.

vincia de Chota, región Cajamarca, entre los meses de agosto a noviembre del 2003, así como plantas *in vitro* crecidas en condiciones asépticas. Las plantas fueron identificadas por el Dr. Guillermo E. Delgado Paredes de la UNPRG, Lambayeque en base a la descripción realizada por Yuncker (1973). Una muestra herborizada fue depositada en el Herbario de la Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo (UNPRG).

Los insectos-plaga de *Diatraea saccharalis* fueron colectados, en estadio de huevo, de cultivos de maíz del Fundo La Peña, Lambayeque, de propiedad de la Facultad de Agronomía de la UNPRG.

#### Obtención y cultivo de plantas *in vitro*

Las semillas de *P. tuberculatum* fueron desinfectadas con alcohol etílico 70% durante 3 minutos e hipoclorito de sodio 5,25% durante 5 minutos, luego enjuagadas con agua destilada esterilizada, e inoculadas en medio de cultivo conteniendo las sales minerales MS (Murashige y Skoog, 1962), las vitaminas inositol 100 mg/L y tiamina.HCl 1 mg/L, sacarosa 2% y agar 0,8%; realizándose esta actividad en el Laboratorio de Cultivo de Tejidos Vegetales y Recursos Genéticos de la Facultad de Ciencias Biológicas de la UNPRG. Después de 3 meses de cultivo las plántulas fueron micropropagadas por ápices caulinares y nudos, en medio de cultivo similar al anterior excepto que fue suplementado con ácido indol-3-acético (AIA) y ácido giberélico (AG<sub>3</sub>) 0,02 mg/L, respectivamente. El pH del medio de cultivo

fue ajustado en  $5,7 \pm 0,1$  con NaOH y HCl 0,1 N, respectivamente, y autoclavado a 15 lb/pulg<sup>2</sup> de presión y 121 °C de temperatura durante 20 minutos. La incubación de los cultivos se realizó con 10 W.m<sup>2</sup> de irradiancia, 24-26 °C de temperatura y 16-8 h de fotoperiodo.

#### Obtención e inoculación de larvas

Las posturas de *D. saccharalis* fueron incubadas en  $25 \pm 1$  °C de temperatura y  $70 \pm 5\%$  de humedad relativa en cámaras de vidrio. Ocurrida la eclosión, las larvas fueron alimentadas con hojas y frutos frescos de maíz. Las pupas fueron sexadas, desinfectadas con hipoclorito de sodio 2,5% durante 30 segundos y almacenadas en frascos de vidrio conteniendo algodones humedecidos y cubiertos con tul. Los adultos fueron almacenados en frascos de vidrio en proporción 4:5 (hembra:macho), donde se acondicionó maceteros con plántulas de maíz para facilitar la oviposición, y fueron alimentados con una solución de agua azucarada (agua y miel de abeja) en proporción 3:1, embebida en pequeñas tiras de papel de filtro. Con las posturas obtenidas se reinició el proceso hasta la obtención de larvas en el III estadio y de la misma edad. Fueron instaladas 5 larvas por placa de Petri haciendo un total de 20 larvas por tratamiento. Los tratamientos fueron establecidos después de realizado bioensayos rápidos que determinaron el rango óptimo de efectividad del extracto; asimismo, cada tratamiento se repitió dos veces. El método de inoculación de las larvas fue el de aplicación tópica en el mesotorax, que consistió en aplicar la solución del extracto (previamente eluida con agua destilada) utilizando una micropipeta Eppendorf de 100 mL calibrada para liberar 6,5 mL de la solución por larva con las dosis previamente definidas. Las larvas inoculadas fueron alimentadas con hojas y frutos frescos de maíz, realizándose las evaluaciones después de 24, 48 y 72 horas de la aplicación. Se asumió que una larva estaba muerta cuando, observada al estereomicroscopio, no reaccionaba al ser tocada en la región cervical con un puntero de punta roma. Las larvas testigo fueron inoculadas solamente con agua destilada.

#### Preparación del extracto

En el caso de plantas silvestres, hojas, tallos y espigas maduras fueron inicialmente secados al ambiente y luego en estufa a 50 °C durante una semana. Posteriormente, 45 g fueron molidos hasta obtener un polvo fino y sometidos a extracción, por separado, con diclorometano (DCM) - metanol (MeOH) 2:1 y alcohol etílico 96% (EtOH) por tres veces consecutivas durante 48 horas. El extracto acuoso se obtuvo de manera directa hirviendo la muestra (2,5; 5 y 10 g) por 10 minutos en 50 mL de agua destilada (5, 10 y 20%, respectivamente) hasta obtener un volumen final de 25 mL; en el caso de plantas *in vitro*, plantas completas incluyendo hojas, tallos y raíces, de 6-8 meses de edad, fueron sometidas a un similar proceso de extracción pero utilizando DCM-MeOH (2:1) como único solvente de extracción (Figura 1).

#### Análisis estadístico

En el análisis estadístico se utilizó un diseño experimental de estímulo creciente donde los grupos experimentales estuvieron constituidos por larvas del III estadio de *D. saccharalis* a las que se aplicó como estímulo concentraciones crecientes de extractos DCM:MeOH, EtOH y acuoso de espigas maduras así como extracto DCM:MeOH de plantas *in vitro* de *P. tuberculatum*.

**Tabla 1.** Rendimiento de extractos DCM:MeOH y EtOH provenientes de plantas silvestres e *in vitro* de *P. tuberculatum*.

Procedencia	Explante	Solvente	Masa seca (g)	Peso de extracto (g)	Rendimiento (%)
Plantas de campo	Hoja	DCM:MeOH	45	1,99	4,44
		EtOH	45	2,26	5,02
	Tallo	DCM:MeOH	45	0,71	1,58
		EtOH	45	0,96	2,13
	Espiga madura	DCM:MeOH	45	2,72	6,04
		EtOH	45	5,31	11,78
Plantas <i>in vitro</i>		DCM:MeOH	9,4	0,59	6,3

Los parámetros estadísticos  $CL_{50}$  (concentración letal media) y  $CL_{90}$  (concentración letal noventa) y sus límites de confianza fueron determinados utilizando el software U.S. EPA Probit Analysis Program Ver 1.5; Environmental Monitoring Systems Laboratory, Cincinnati, OH, USA. Con los valores de  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$  se trazaron las rectas de regresión log Concentración-Mortalidad Probit, utilizando papel semilogarítmico, colocando en el eje de las ordenadas los porcentajes de mortalidad en valores próbitos (5 y 6,28, respectivamente) obtenidos de la tabla de Fisher y Yates (Busvine, 1957), y en el eje de las abscisas las concentraciones letales.

**Resultados**

El mayor rendimiento porcentual de extractos de plantas silvestres de *P. tuberculatum* se alcanzó con espigas maduras y utilizando como solvente EtOH; en plantas *in vitro*, el rendimiento fue similar al obtenido con espigas maduras y DCM:MeOH (Tabla 1). En ambos casos el rendimiento fue superior a lo observado en hojas y tallos de plantas silvestres.

Referente a la acción biocida de extractos, ensayos preliminares demostraron que los extractos DCM:MeOH, EtOH y acuoso de hojas y tallos de plantas silvestres así como el extracto acuoso de espigas maduras no ejercieron efecto alguno sobre larvas del III estadio de *D. saccharalis*, razón por la cual los resultados no son mostrados en tablas.

Una mortalidad de 100% fue alcanzada con extracto DCM:MeOH de espigas maduras a 48 h a 0,09 mg/mL de concentración (Tabla 2), en tanto que 95% de mortalidad fue alcanzada con extracto EtOH de espigas maduras, también a 48 h pero a 0,18 mg/mL de concentración (Tabla 3). Referente a

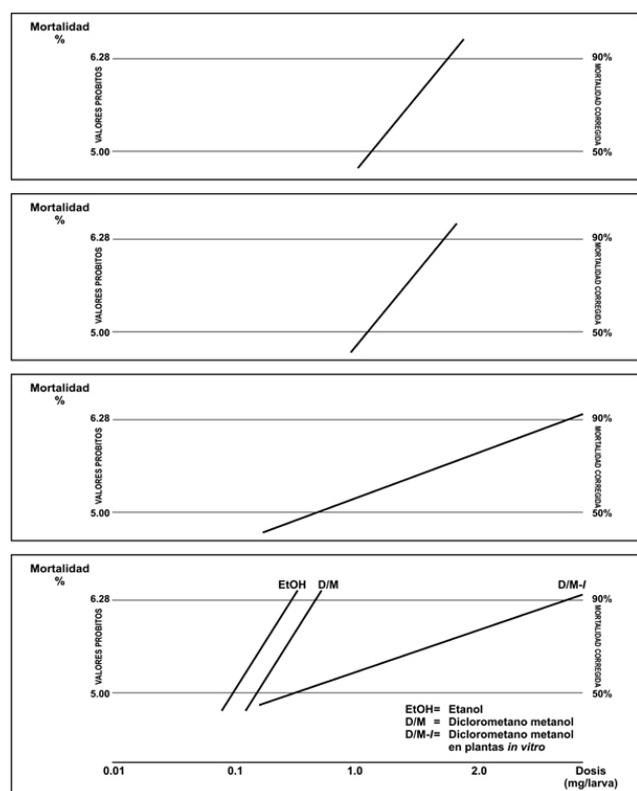
plantas *in vitro*, cuyos extractos fueron obtenidos únicamente con DCM:MeOH, 85% de mortalidad fue alcanzada a 48 h con 0,18 mg/mL de concentración (Tabla 4). En todos los casos la mortalidad del testigo fue cero por ciento.

En las tabla 5 se presentan los rangos de valores de concentraciones letales al 50% y 90% con sus límites de confianza y confiabilidad a 95%, tanto para espigas maduras como para plantas *in vitro*. En el caso de espigas maduras, los extractos de EtOH alcanzaron un patrón de efectividad ligeramente superior respecto a los extractos DCM:MeOH, tanto para  $CL_{50}$  como para  $CL_{90}$ , a 72 h de exposición. Así, 50% de mortalidad larval se alcanzó con EtOH 0,11 mg/mL (0,08-0,15 mg/mL) respecto a DCM:MeOH con 0,16 mg/mL (0,18-0,24 mg/mL), en tanto que 90% de mortalidad larval se alcanzó con EtOH 0,35 mg/mL (0,23-0,88 mg/mL) respecto a DCM:MeOH con 0,55 mg/mL (0,33-1,82 mg/mL). En el caso de plantas *in vitro*, el extracto de DCM:MeOH, a 72 h de exposición, alcanzó un patrón de efectividad para  $CL_{50}$  de 0,39 mg/mL (0,27-0,63 mg/mL), en tanto que para  $CL_{90}$  de 2,62 mg/mL (1,33-9,96 mg/mL).

Las líneas de regresión (Figuras 2 a-d), expresan la proporción de mortalidad larvaria en valores probitos por el logaritmo de las concentraciones (mg/mL) en 72 h de exposición al extracto correspondiente, tanto para  $CL_{50}$  como para  $CL_{90}$ . En las figuras 2 a-c, correspondientes a los extractos DCM:MeOH (Figura 2a) y EtOH (Figura 2b) de espigas maduras y DCM:MeOH (Figura 2c) de plantas *in vitro*, el patrón homogéneo de respuesta indica que, en todos los casos, la pendiente significa que por cada unidad de incremento en la concentración se produce un mayor incremento de mortalidad. Asimismo, en los extractos DCM:MeOH y EtOH de espigas maduras y DCM:MeOH de

**Tabla 2.** Porcentaje de mortalidad de larvas del III estadio de *D. saccharalis* con extracto DCM-MeOH de espigas maduras de *P. tuberculatum*.

Concentración (mg/6,5 mL)	Concentración (mg/mL)	Mortalidad (%)			Mortalidad Observada (%)	Mortalidad Corregida (%)
		24 h	48 h	72 h		
0,0	0	0	0	0	0	0
0,005	0,0007	0	0	0	0	0
0,009	0,0014	0	0	0	0	0
0,019	0,0029	0	0	0	0	0
0,038	0,0057	0	5	10	10	10
0,075	0,0115	10	10	20	30	30
0,15	0,0230	25	30	40	40	40
0,3	0,0460	65	80	80	80	80
0,6	0,0920	70	100	100	100	100
1,2	0,1850	85	100	100	100	100



**Figura 2 a-d.** Líneas de regresión entre los valores probitos o mortalidad probit (%) por el logaritmo de las concentraciones (Concentración: mg/mL) a 72 h de exposición en diferentes extractos de *P. tuberculatum* sobre el III estadio larval de *D. saccharalis* (a). Extracto DCM:MeOH de espigas maduras, (b). Extracto EtOH de espigas maduras, (c). Extracto DCM:MeOH de plantas *in vitro*, (d). Extracto EtOH y DCM:MeOH de espigas maduras y DCM:MeOH de plantas *in vitro*.

plantas *in vitro*, el valor de las pendientes de las líneas de regresión (Figura 2d), indica que los extractos EtOH y DCM:MeOH de espigas maduras fueron superiores al extracto DCM:MeOH de plantas *in vitro*, en especial para  $CL_{90}$ .

### Discusión

Tal como fue indicado anteriormente, los extractos DCM:MeOH, EtOH y acuoso de hojas y tallos de plantas silvestres así como el extracto acuoso de espigas maduras no ejercieron efecto significativo sobre larvas del III estadio de *D.*

*saccharalis*, lo que puede atribuirse, en el caso de hojas y tallos, a una distribución restringida de las amidas y de otros compuestos con actividad insecticida; en el caso del extracto acuoso, sin duda no es un procedimiento de extracción adecuado. Por el contrario, los extractos de DCM:MeOH y EtOH de espigas maduras y DCM:MeOH de plantas *in vitro*, exhibieron una potente actividad insecticida sobre larvas del III estadio de esta especie de lepidóptera. En efecto, tal como lo expresan los valores de  $CL_{50}$  y  $CL_{90}$ , los extractos DCM:MeOH y EtOH de espigas maduras exhibieron una mayor toxicidad que el extracto DCM:MeOH de plantas *in vitro* y el extracto EtOH exhibió, asimismo, una mayor efectividad que el extracto DCM:MeOH. Los resultados conllevan a sugerir dos posibilidades para su uso directo: en primer lugar, la eficiente actividad insecticida del extracto EtOH de espigas maduras de *P. tuberculatum* permite que el poblador rural utilice de manera amplia el extracto con aguardientes tradicionales como el «yonque» y el «cañazo», que son de fácil obtención, bajo costo y menor toxicidad que otros solventes orgánicos, y en segundo lugar, si bien es cierto que el extracto de plantas *in vitro* exhibió una menor toxicidad respecto a los extractos de espigas maduras, se presenta como una posibilidad para biosintetizar el principio activo a gran escala mediante el establecimiento de suspensiones celulares (Delgado, 1999; Danelutte et al., 2005).

Al respecto, numerosas especies de varias familias vegetales han sido utilizadas en el control de diversos insectos responsables en la transmisión de enfermedades o como plagas en todos los cultivos del mundo. Entre estas familias destaca la familia Piperaceae, especialmente los miembros del género *Piper* (Marquis, 1991; Bernard et al., 1995). Así tenemos que *P. guineense* y *P. nigrum*, son utilizados como insecticidas y moluscicidas en diferentes partes del África (Ivbijaro y Bolaji, 1990); las especies de la India *P. longum*, *P. betle*, *P. peepuloides* y *P. cubeba* han demostrado actividad insecticida contra mosquitos y moscas (Miyakado et al., 1989) y *P. umbellatum*, *P. hispidum* y *P. auritum*, nativas de América Central y el Noroeste de la Amazonia, son utilizados por las poblaciones indígenas para prevenir la malaria (Schultes, 1980). Algunas especies como *P. aduncum*, *P. aequale*, *P. hispidum*, *P. reticulatum* y *P. tuberculatum* que ocurren en el Perú, presentan significativa actividad en el control de mosquitos del género *Aedes* (Bernard et al., 1995).

Referente a *P. tuberculatum*, 100 mg/mL de extracto hexánico de hoja indujo una mortalidad de 54% en larvas de II estadio de

**Tabla 3.** Porcentaje de mortalidad de larvas del III estadio de *D. saccharalis* con extracto EtOH de espigas maduras de *P. tuberculatum*.

Concentración (mg/6,5 mL)	Concentración (mg/mL)	Mortalidad (%)			Mortalidad Observada (%)	Mortalidad Corregida (%)
		24 h	48 h	72 h		
0,0	0	0	0	0	0	
0,005	0,0007	0	0	0	0	
0,009	0,0014	5	0	5	5	
0,019	0,0029	5	0	5	5	
0,038	0,0057	15	15	15	20	
0,075	0,0115	25	30	30	35	
0,15	0,0230	60	65	70	70	
0,3	0,0460	80	85	85	85	
0,6	0,0920	80	85	85	85	
1,2	0,1850	85	95	95	95	

**Tabla 4.** Porcentaje de mortalidad de larvas del III estadio de *D. saccharalis* con extracto DCM-MeOH de plantas *in vitro* de *P. tuberculatum*.

Concentración (mg/6,5 mL)	Concentración (mg/mL)	Mortalidad (%)			Mortalidad Observada (%)	Mortalidad Corregida (%)
		24 h	48 h	72 h		
0,0	0	0	0	0	0	0
0,005	0,0007	0	0	0	0	0
0,009	0,0014	0	0	0	0	0
0,019	0,0029	5	5	5	5	5
0,038	0,0057	10	10	10	10	10
0,075	0,0115	10	15	15	15	15
0,15	0,0230	15	15	20	20	20
0,3	0,0460	15	30	35	35	35
0,6	0,0920	30	50	60	60	60
1,2	0,1850	55	85	85	90	90

*Aedes atropalpus*, después de 24 h de exposición (Bernard et al., 1995); los autores atribuyeron la toxicidad del extracto a la ocurrencia de la amida isobutílica 4,5-dihidropiperlongumina, puesto que 0,01 mg/L de la sustancia pura indujo una mortalidad larval de 47% en el mismo tiempo de exposición. En trabajos previos, realizados con extracto de semillas, fue demostrada la ocurrencia de dos amidas isobutílicas y cinco piperidínicas las que mostraron una fuerte actividad contra *Cladosporium sphaerospermum*, en especial piperina y 5,6-dihidropiperlonguminina con 1 y 5 mg, respectivamente, como cantidad mínima requerida para inhibir el crecimiento del hongo (Navickiene et al., 2000); asimismo, la actividad antifúngica de varias amidas contra *C. cladosporioides* también fue observada utilizando como cantidad mínima inhibitoria 5 a 10 mg (Silva et al., 2002). Estudios realizados con amidas de otras especies de Piperaceae como *Piper hispidum* (Navickiene et al., 2000) y *P. arboreum* (Silva et al., 2002) contra *Cladosporium* han arrojado resultados similares. Adicionalmente, flavononas e hidroquinonas preniladas de *P. crassinervium* (Danelutte et al., 2003) y cromenes de *Peperomia villipetiola* (Malquichagua et al., 2005), ensayados contra ambas especies de *Cladosporium*, mostraron, asimismo, una fuerte actividad antifúngica.

Por otro lado, comparando los resultados obtenidos por Bernard et al., (1995), en nuestro trabajo fue demostrado que concentraciones tan bajas como 0,01 - 1,8 mg/mL, para extracto de espigas maduras y 0,2 - 1,8 mg/mL, para plantas *in vitro*, indujeron una mortalidad superior a 50% del III estadio larval de *D. saccharalis*, en 24 h de exposición. Este hecho tiene una profunda significación ecológica puesto que presupone una ventaja el uso de extractos vegetales como fuente de una complejidad de moléculas que muestran diversas bioactividades, elevan-

do los niveles de toxicidad en relación a los compuestos individuales químicamente puros, a lo que se suma el riesgo de inducir resistencia (Bobadilla et al., 2005). Como es conocido, la fitoquímica del género *Piper* ha revelado la ocurrencia de diversos compuestos como alcaloides, fenilpropanoides, lignanos, neolignanos, terpenos, flavononas, entre otros (Parmar et al., 1997), muchos de las cuales sinergizan insecticidas naturales y sintéticos (Bernard et al., 1995), por ejemplo, el fenilpropanoide dillapiol sinergiza no solamente con las piretrinas sino también con carbamatos y organocloratos (Parmar y Tomar, 1983). Recientemente, ha sido propuesta como estrategia de trabajo el uso de extractos heterogéneos de toda la biomasa de la planta, para inducir un efecto sinérgico sobre algún organismo específico (Leatemala e Isman, 2004).

Se conoce muy poco sobre cómo estaría operando la 4,5-dihidropiperlonguminina y otros compuestos relacionados sobre el III estadio larval de *D. saccharalis*, sin embargo, se atribuye su toxicidad a la ocurrencia en su estructura molecular del anillo metilenedioxifenil (MDP) (Bernard et al., 1995), tal como ha sido reportado para otros compuestos de estructura química similar como piperida, guineensinamida, guineensina, pellitorina y kalecida, aisladas de *P. guineense* muy activas en el control de adultos de *Musca domestica* (Gbewonyo et al., 1993). 4,5-dihidropiperlonguminina, al igual que otras isobutilamidas alquil y olefinicas, se encuentra restringida a miembros de muy pocas familias de gran presencia en los trópicos húmedos como son las Piperaceae, Asteraceae y Rutaceae, donde la herbivoría es una potente fuerza selectiva. Las isobutilamidas aisladas en Piperaceae tienen bajo peso molecular, contienen un único átomo de nitrógeno y se presume que no sería «costosa» su biosíntesis (Greger, 1988).

**Tabla 5.** Concentraciones letales a 50% (CL<sub>50</sub>) y 90% (CL<sub>90</sub>), límites de confianza (LC) y pendientes (b) de extractos de DCM-MeOH y EtOH de espigas maduras de *P. tuberculatum* sobre larvas del III estadio de *D. saccharalis* en 72 h de exposición.

Especie	Solvente	Concentraciones Letales (mg/mL)				b
		CL <sub>50</sub>	LC	CL <sub>90</sub>	LC	
Espigas maduras	DCM-MeOH	0,16	0,18 - 0,24	0,55	0,33 - 1,82	2,4
	EtOH	0,11	0,08 - 0,15	0,35	0,23 - 0,88	2,5
Plantas <i>in vitro</i>	DCM-MeOH	0,39	0,27 - 0,63	2,62	1,33 - 9,96	1,6

## Literatura citada

- Bernard, C.B., H.G. Krishnamurty, D. Chauret, T. Durst, B.J.R. Philogène, I. Sánchez-Vindas, C. Hasbun, L. Poveda, L. San Román & J.T. Arnason. 1995. Insecticidal defenses of Piperaceae from the neotropics. *J. Chem. Ecol.* 21(6):801-814.
- Bobadilla, M., F. Zavala, M. Sisniegas, G. Zavaleta, J. Mostacero & L. Taramona. 2005. Evaluación larvívica de suspensiones acuosas de *Annona muricata* Linnaeus «guanabana» sobre *Aedes aegypti* Linnaeus (Diptera, Culicidae). *Rev. Peruana Biol.* 12(1):145-152.
- Busvine, J.R. 1957. A Critical Review of the Techniques for Testing Insecticides. pp. 267-268. 2da. Edición. Commonwealth Agriculture Bureaux. London.
- Danelutte, A.P., J.H.G. Lago, M.C.M. Young & M.J. Kato. 2003. Antifungal flavonones and prenylated hydroquinones from *Piper crassinervium* Kint. *Phytochemistry* 64:555-559.
- Danelutte, A.P., M.B. Costantin, G.E. Delgado, R. Braz-Filho & M.J. Kato. 2005. Divergence of secondary metabolism in cell suspension cultures and differentiated plants of *Piper cernuum* and *P. crassinervium*. *J. Braz. Chem. Soc.* 16(6B):1425-1430.
- Delgado, G.E. 1999. Metabólitos Secundários em Cultura de Tecidos de Piperaceae. Relatório Anual. Projeto de Pós-Doutoramento IQ-USP/FAPESP. Universidade de São Paulo, Brasil.
- Gbewonyo, W.S.K., D.J. Candy & M. Anderson. 1993. Structure-activity relationships of insecticidal amides from *Piper guineense* root. *Pestic. Sci.* 37:57-66.
- Greger, H. 1988. Comparative phytochemistry of the alkaloids. pp. 159-178. In: J. Lam, H. Breteler, T. Arnason & I. Hansen (eds.). *Chemistry and Biology of Naturally Occurring Acetylenes and Related Compounds. Bioactive Molecules. Vol. 7.* Elsevier, Amsterdam.
- Ivbijaro, M.F. & O.O. Bolaji. 1990. Effects of cypermethrin + dimethoate and extracts of *P. guineense* and *Azadirachta indica* on the pests and yield of cowpea, *Vigna unguiculata*. *J. Agric. Sci.* 115:227-231.
- Leatemia, J. & B. Isman. 2004. Toxicity and antifeedant activity of crude seed extracts of *Annona squamosa* (Annonaceae) against lepidopteran pests and natural enemies. *Int. J. Trop. Insect Sci.* 24(1):150-158.
- Malquichagua, K.J., G.E. Delgado, L. Ripalda, M.C.M. Young & M.J. Kato. 2005. Chromenes of polyketide origin from *Peperomia villipetiola*. *Phytochemistry* 66:573-579.
- Marquis, R.J. 1991. Herbivore fauna of *Piper* (Piperaceae) in a Costa Rican wet forest: Diversity, specificity, and impact. pp. 177-199. In: P.W. Price, T.M. Lewinsohn, G.W. Fernandes & W.W. Benson (eds.). *Plant-Animal Interactions: Evolutionary Ecology in Tropical and Temperate Regions.*
- Miyakado, M., I. Nakayama & N. Ohno. 1989. Insecticidal unsaturated isobutylamides: From natural products to agrochemical leads. pp. 183-187. In: J.T. Arnason, B.J.R. Philogène & P. Morand (eds.). *Insecticides of Plant Origin. ACS Symposium Series 387, American Chemical Society, New York.*
- Murashige, T. & Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth in bioassays with tissue culture. *Physiol. Plant.* 15:473-497.
- Navickiene, H.M.D., A.C. Alcício, M.J. Kato, V. da S. Bolzani, M.C.M. Young, A.J. Cavalheiro & M. Furlan. 2000b. Antifungal amides from *Piper hispidum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 55:621-626.
- Parmar, B.S. & S.S. Tomar. 1983. Review of research on insecticide synergists in India - retrospect and prospect. *Int. J. Trop. Agric.* 1(1):7-17.
- Parmar, V.S., S.C. Jain, K.S. Bisht, R. Jain, P. Taneja, A. Jha, O.M. Tyagi, A.K. Prasad, J. Wengel, C.E. Olsen & P.M. Boll. *Phytochemistry of the genus Piper. Phytochemistry* 46:597-673.
- Sarmiento J.M. & R.V. Razuri. 1978. *Bacillus thuringiensis* en el control de *Spodoptera frugiperda* y *Diatraea saccharalis* en maíz. *Rev. Peruana Entomología* 21:121-124.
- Schultes, R.F. 1980. De *Plantis Toxicariis e Mundo Novo* Commentationes XXVI. Ethnopharmacological notes on the flora of northwestern South America. *Bot. Mus. Leafl. Harv. Univ.* 28(1):1-45.
- Sengupta, S. & A.B. Ray. 1987. The chemistry of *Piper* species: a review. *Fitoterapia* LVIII (3):147-165.
- Silva, R.V., H.M.D. Navickiene, M.J. Kato, V.S. Bolzani, C.I. Méda, M.C.M. Young & M. Furlán. 2002. Antifungal amides from *Piper arboreum* and *Piper tuberculatum*. *Phytochemistry* 59:521-527.
- Yuncker, T.G. 1973. The Piperaceae of Brazil II: *Piper* - Group V; *Ottonia*, *Pothomorphe*; *Sarcorrhachis*. *Hoehnea* 3:29-284.