



ARTIGO ORIGINAL

Murilo Fazolin^{1*}
Joelma Lima Vidal Estrela¹
André Fábio Medeiros Monteiro¹
Luiara Paiva Gomes²
Iriana Maria da Silva²
Maria Sâmylla de Farias Silva²

¹ Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária –
Embrapa Acre, Rodovia BR 364, Km 14, C.P.
321, 69900-970, Rio Branco, AC, Brasil
² União Educacional do Norte – UNINORTE,
Alameda Hungria, 200, Jardim Europa, 69915-
497, Rio Branco, AC, Brasil

*Autor Correspondente:
E-mail: murilo.fazolin@embrapa.br

PALAVRAS-CHAVE

Imidacloprido/betaciflutrina
Teflubenzuron/alfacipermetrina
Tiametoxan/lambda-cialotrina
Resistência a inseticidas

KEYWORDS

Imidacloprid/beta-Cyfluthrin
Teflubenzuron/alpha-Cypermethrin
Thiamethoxam/lambda-Cyhalothrin
Insecticide resistance

Potencial sinérgico do óleo de *Piper aduncum* para inseticidas formulados com misturas de princípios ativos

Synergistic potential of Piper aduncum oil for insecticides formulated with mixtures of active ingredients

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a sinergia e a homogeneidade da resposta das lagartas de *Spodoptera frugiperda* ao óleo essencial de *Piper aduncum*, em combinações com inseticidas formulados com dois princípios ativos em misturas prontas: imidacloprido/betaciflutrina, teflubenzuron/alfacipermetrina e tiametoxan/lambda-cialotrina em comparação a butóxido de piperonila (PBO controle positivo). Por meio da relação das CL_{50} e DL_{50} dos inseticidas tomados isoladamente e de suas respectivas combinações sinérgicas com o óleo essencial e o PBO, foram obtidos os fatores de sinergismo (FSs) para comparação entre si. O coeficiente angular das curvas de dose/concentração-mortalidade foi utilizado para determinar a toxicidade relativa promovida pelos sinérgicos e a homogeneidade de resposta. Por contato residual, evidenciou-se significativa potencialização dos inseticidas comerciais formulados com misturas prontas de tiametoxan/lambda-cialotrina (FS= 4,9 - 8,8) e teflubenzuron/alfacipermetrina (FS = 968,3 - 1.294,4), quando combinados com óleo essencial de *P. aduncum*. Já por contato tópico, ocorreu significativa potencialização somente com a mistura teflubenzuron/alfacipermetrina (FS= 1,6 - 7,8), quando combinada com óleo essencial. As combinações sinérgicas apresentaram homogeneidade de resposta tanto por contato tópico como residual, para pelo menos uma combinação sinérgica com o óleo essencial de *P. aduncum*. A significância dos valores do FS das combinações do óleo essencial de *P. aduncum* com os inseticidas à base de tiametoxan/lambda-cialotrina e teflubenzuron/alfacipermetrina pode indicar que esse óleo essencial é uma alternativa ao PBO na promoção do efeito sinérgico.

ABSTRACT: This study aimed to evaluate the synergy and response homogeneity of the *Spodoptera frugiperda* larvae population to the essential oil of *Piper aduncum* in combination with insecticides formulated with two active ingredients in ready mixtures: Imidacloprid/beta-Cyfluthrin, Teflubenzuron/alpha-Cypermethrin and Thiamethoxam/lambda-Cyhalothrin, compared with piperonyl butoxide (PBO positive controls). By the ratio of the LC_{50} and LD_{50} of the insecticides taken singly and their respective synergistic combinations with essential oil and (PBO), the synergism (FS) factors for comparison with each other were obtained. The slope of the dose/concentration-mortality curves was used to determine the relative toxicity promoted by synergistics and the homogeneity of response. Residual contact revealed a significant potentiation for commercial insecticides formulated with ready mixtures Thiamethoxam/lambda-Cyhalothrin (FS= 4.9 - 8.8) and Teflubenzuron/alpha-Cypermethrin (FS= 968.3 - 1294.4), when combined with the essential oil of *P. aduncum*. In the topical contact, there were significant potentiation only for the ready mixtures of Teflubenzuron/alpha-Cypermethrin (FS= 1.6 - 7.8) insecticides when combined with essential oil. The synergistic combinations presented homogeneous response by topical contact as well as residual, for at least a synergistic combination with essential oil of *P. aduncum*. The FS significance values of combinations of the *P. aduncum* essential oil with ready mixtures insecticides Thiamethoxam/lambda-Cyhalothrin and Teflubenzuron/alpha-Cypermethrin, may indicate this essential oil as an alternative to PBO for synergistic effect.

Recebido: 03 jun. 2016
Aceito: 09 fev. 2017

1 Introdução

A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (JE Smith), é uma praga-chave para várias culturas, dentre elas o milho. Para seu controle, são utilizadas diversas classes de inseticidas, trazendo como consequência o desenvolvimento da resistência do inseto a esses compostos (Yu et al., 2003).

No Brasil, os piretroides sintéticos são muito utilizados nos programas de manejo integrado dessa praga, e dos 156 produtos registrados para o controle na cultura do milho, 55 são formulados exclusivamente com esse grupo químico (AGROFIT, 2016). No entanto, foram constatadas populações resistentes de lagartas *S. frugiperda* a várias formulações à base de lambdacialotrina e derivados de ciflutrina e cipermetrina (APRD, 2016).

As estratégias adotadas para o manejo da resistência de insetos, segundo Georghiou (1983), podem ser definidas como: por moderação, cujo intuito é diminuir o uso de produtos químicos para preservar os indivíduos suscetíveis; por saturação, que visa minimizar a capacidade de adaptação dos indivíduos resistentes na presença de pressão de seleção por meio do uso de sinérgicos ou doses elevadas do inseticida; e por ataque múltiplo, ao fazer uso da mistura de produtos químicos ou em rotação.

De todas as estratégias propostas para manejar a resistência, as misturas de inseticidas são as mais controversas. Se alelos resistentes ocorrem em loci separados, em uma população com frequência muito baixa, é improvável que um indivíduo qualquer seja portador de ambos os alelos. Se indivíduos suscetíveis, não expostos aos inseticidas, são relativamente abundantes e acasalam ao acaso com os sobreviventes resistentes, as misturas podem atrasar o desenvolvimento da resistência (Curtis, 1985). Assim, o uso de um segundo inseticida elimina muitas das vantagens dos sobreviventes resistentes ao primeiro produto e, conseqüentemente, reduz a discriminação entre genótipos. No entanto, Salmeron & Omoto (2004) argumentaram que essas condições são raramente obedecidas na prática, levando à seleção de indivíduos resistentes aos dois produtos simultaneamente.

Dos 15 produtos registrados para *S. frugiperda* em misturas prontas de princípios ativos em formulações comerciais, nove delas são composições com piretroides (AGROFIT, 2016).

Levando-se em consideração a possibilidade de ocorrer resistência a dois princípios ativos diferentes (múltipla ou cruzada), a estratégia por ataque múltiplo (utilização de misturas) poderá apresentar mais eficácia quando associada à estratégia por saturação (utilização de um sinérgico).

O butóxido de piperonila (PBO) é o sinérgico mais utilizado industrialmente, sendo obtido por síntese a partir do safrol. Esse sinérgico é utilizado em formulações comerciais à base de piretrina, cipermetrina, deltametrina e fenvalerato (Farnham, 1998). No entanto, Walia et al. (2004) apontaram indícios de que PBO pode causar toxicidade aguda e crônica para organismos não alvo, o que tem diminuído o interesse de utilização desse sinérgico. Esses autores apontaram, ainda, dilapiol como o produto com mais possibilidade de suceder PBO.

O metabolismo secundário das piperáceas apresenta-se como um dos mais versáteis das famílias botânicas conhecidas. Os metabólitos acumulados pelas espécies dessa família caracterizam-se por serem oriundos da biossíntese mista (chiquimato/acetato), resultando na produção de amidas ou

de compostos aromáticos essencialmente fenilpropanoidicos dos tipos lignanas e neolignanas, além da ocorrência de terpenos, flavonoides e outras classes de produtos naturais (Gottlieb et al., 1995)

O óleo rico em dilapiol, obtido de plantas de *Piper aduncum* L. (Piperaceae), é uma opção à produção de lignanas sinérgicas, comprovando esse efeito para inseticidas do grupo dos piretroides (Mukerjee & Saxena, 1979; Bernard et al., 1990; Fazolin et al., 2016), uma vez que esse composto secundário atua no processo detoxificativo dos insetos por possuir uma associação de lignanas ao grupo metilenodioxifenil, tratando-se de uma característica das piperáceas, considerada importante inibidora de monoxigenases do citocromo P450 (Bernard et al., 1990). Essa espécie de piperácea, com altos teores de dilapiol (Maia et al., 1998), é abundante na Amazônia Ocidental e apresenta viabilidade de produção em escala comercial.

O estudo teve o objetivo de comparar a sinergia e a homogeneidade de resposta do óleo essencial de *P. aduncum*, sem qualquer processo de purificação, com o PBO, em combinações com formulações inseticidas comerciais produzidas a partir de misturas prontas de princípios ativos.

2 Material e Métodos

Plantas adultas de *P. aduncum* foram obtidas em uma área de produção experimental da Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) Acre (10,0226°S, 67,7088°W), em fevereiro de 2013 (autorizações do Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis: 02001.050950/2011-61 para pesquisa científica e 02000.000460/2013-96 para bioprospecção). Após o corte das plantas a 0,4 m do solo, folhas foram submetidas à secagem em estufa, até 30% de umidade. O óleo essencial (OEPA) foi obtido em um extrator por arraste de vapor utilizando sistema de caldeira aquecida a diesel (Pimentel et al., 1998).

A análise cromatográfica do óleo foi efetuada em cromatógrafo a gás (CG) HP5890, equipado com coluna de sílica fundida Agilent HP5 (30 m x 0,32 mm d. i. x 0,25 µm de espessura do filme), tendo hélio como gás de arraste a 1 mL.min⁻¹. Além disso, foi acoplada ao CG a espectrometria de massa (CG-EM). A caracterização química foi realizada pela comparação dos espectros de massas com os disponíveis no banco de dados da espectroteca do CG-EM, por meio de padrões autênticos, dados da literatura e também pelos índices de Kovats. Para determinar os índices de Kovats, injetou-se uma mistura de alcanos lineares (C9 a C26) no cromatógrafo (Thomazini & Franco, 2000). A quantificação dos constituintes foi realizada por meio de CG-DIC, nas mesmas condições operacionais descritas para a identificação no CG-EM.

As formulações dos inseticidas utilizadas foram: imidacloprido (neonicotinoide)/betaciflutrina (piretroide) (Connect[®]), betaciflutrina (piretroide) (Turbo[®]), teflubenzuron (benzoilfenilureia)/alfacipermetrina (piretroide) (Imunit[®]), alfacipermetrina (piretroide) (Fastac[®]100 CS), tiametoxan (neonicotinoide)/lambdacialotrina (piretroide) (Engeo[™] Pleno) e lambdacialotrina (piretroide) (Karate Zeon[®] 50 CS). O PBO utilizado foi de grau técnico de 90%. Os experimentos foram desenvolvidos no Laboratório de Entomologia da Embrapa Acre e em todos eles foram utilizadas lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*. Os indivíduos foram confinados em placas de

Petri (5,0 cm x 1,5 cm) e mantidos em câmaras climatizadas do tipo BOD à temperatura de 25°C ± 2°C, umidade relativa de 70 ± 5% e fotofase de 12 horas.

Inicialmente, foram obtidas faixas de resposta correspondentes aos intervalos de doses e concentrações que ocasionaram mortalidades de lagartas de *S. frugiperda* próximas a zero e a 100%. Dessa faixa de doses e concentrações, foram obtidas faixas mais estreitas de resposta, seguindo-se a metodologia descrita por Finney (1971). Foram estabelecidas sete doses/concentrações para as avaliações toxicológicas definitivas e um controle (acetona como solvente).

Os valores de mortalidade dos tratamentos foram corrigidos pela mortalidade do controle. Foram obtidas curvas de concentração-mortalidade pela análise de Probit, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 2001),

obtendo-se as concentrações e as doses com probabilidade de causar 50% de mortalidade das lagartas (CL₅₀ e DL₅₀, respectivamente) do OEPA, dos inseticidas e das combinações sinérgicas avaliadas.

Nos bioensaios definitivos para avaliação dos contatos tóxico e residual, foram determinadas as doses (DL₅₀) e as concentrações (CL₅₀) para lagartas de *S. frugiperda* submetidas ao tratamento com OEPA, assim como para cada inseticida comercial considerado de forma isolada.

A toxicidade do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (OEPA), para as lagartas de *S. frugiperda*, avaliada por contatos residual e tóxico, foi expressa pela DL₅₀ de 1,1 x 10⁻⁴ µL inseto⁻¹ e pela CL₅₀ de 1.169,7 ppm, respectivamente (Tabelas 1 e 2).

Tabela 1. Toxicidade da combinação de inseticidas com o óleo essencial de *Piper aduncum* L. para lagartas de *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797) por contato tóxico (n = 320).

Table 1. Toxicity of the combinations of PAEO with insecticides against *Spodoptera frugiperda* (J.E.Smith, 1797) larvae via topical contact (n= 320).

Combinações de inseticidas	DL ₅₀ (IC 95%) (µL inseto ⁻¹)	FS	χ ²	GL	Prob.	Coefficiente angular ± EPM
OEPA	1,1 x 10 ⁻⁴ (6,3 x 10 ⁻⁵ -1,6 x 10 ⁻⁴)	-	33,9	26	0,14	0,33 ± 0,04
Tiametoxam + γ- Cialotrina	1,4 x 10 ⁻⁵ (1,1 x 10 ⁻⁵ -1,7 x 10 ⁻⁵)	-	28,3	30	0,56	0,58 ± 0,03
Tiametoxam + γ- Cialotrina + ½ DL _{50 OEPA}	1,4 x 10 ⁻⁶ (1,1 x 10 ⁻⁵ -1,8 x 10 ⁻⁶)	10,0 (9,5-10,7)	20,8	26	0,22	0,37 ± 0,02
Tiametoxam γ- Cialotrina + ¼ DL _{50 OEPA}	5,1 x 10 ⁻⁸ (2,0 x 10 ⁻⁵ -1,3 x 10 ⁻⁷)	266,8 (133,9-553,0)	32,3	22	0,07	0,20 ± 0,02
Tiametoxam + γ- Cialotrina +BPO	1,3 x 10 ⁻⁸ (7,6 x 10 ⁻⁵ -2,2 x 10 ⁻⁸)	1030,1 (765,8-1490,8)	49,7	38	0,10	0,23 ± 0,04
γ- Cialotrina	3,8 x 10 ⁻⁷ (2,9 x 10 ⁻⁵ -5,0 x 10 ⁻⁷)	-	19,8	18	0,35	0,60 ± 0,04
γ- Cialotrina + ½ DL _{50 OEPA}	6,5 x 10 ⁻⁸ (5,3 x 10 ⁻⁵ -8,4 x 10 ⁻⁸)	5,8 (5,5-6,0)*	16,0	22	0,82	0,45 ± 0,06
γ- Cialotrina + ¼ DL _{50 OEPA}	6,7 x 10 ⁻⁸ (4,5 x 10 ⁻⁵ -1,1 x 10 ⁻⁷)	5,7 (6,4-4,7)*	23,0	15	0,08	0,44 ± 0,05
γ- Cialotrina + BPO	3,7 x 10 ⁻⁷ (1,9 x 10 ⁻⁵ -7,0 x 10 ⁻⁷)	1,0 (1,5-0,7)	26,8	16	0,06	0,29 ± 0,05
Imidacloprido + β-Ciflutrina	1,6 x 10 ⁻⁴ (1,1 x 10 ⁻⁵ -2,4 x 10 ⁻⁴)	-	13,7	14	0,48	0,46 ± 0,08
Imidacloprido + β-Ciflutrina + ½ DL _{50 OEPA}	5,5 x 10 ⁻⁵ (4,7 x 10 ⁻⁵ -6,4 x 10 ⁻⁵)	3,0 (2,4-3,7)	9,0	14	0,83	1,11 ± 0,08
Imidacloprido + β-Ciflutrina + ¼ DL _{50 OEPA}	1,1 x 10 ⁻⁴ (7,4 x 10 ⁻⁵ -2,9 x 10 ⁻⁴)	1,5 (1,5-0,8)	6,1	14	0,96	0,42 ± 0,07
Imidacloprido + β-Ciflutrina +BPO	1,3 x 10 ⁻⁵ (9,5 x 10 ⁻⁵ -1,9 x 10 ⁻⁵)	13,0 (12,0-12,5)	20,6	18	0,30	0,50 ± 0,07
β-Ciflutrina	5,5 x 10 ⁻⁶ (3,4 x 10 ⁻⁶ -1,0 x 10 ⁻⁵)	-	38,4	14	0,05	0,62 ± 0,07
β-Ciflutrina + ½ DL _{50 OEPA}	1,0 x 10 ⁻⁶ (8,3 x 10 ⁻⁷ -1,4 x 10 ⁻⁶)	5,3 (4,1-7,5) *	18,0	18	0,46	0,62 ± 0,05
β-Ciflutrina+ ¼ DL _{50 OEPA}	2,8 x 10 ⁻⁶ (1,8 x 10 ⁻⁶ -5,5 x 10 ⁻⁶)	2,0 (1,8-2,0)	7,3	18	0,99	0,37 ± 0,03
β-Ciflutrina + BPO	5,4 x 10 ⁻⁶ (4,5 x 10 ⁻⁶ -6,3 x 10 ⁻⁶)	8,1 (6,0-12,8)	14,0	18	0,73	0,74 ± 0,08
Teflubenzurom + α-Cipermetrina	1,1 x 10 ⁻⁵ (7,3 x 10 ⁻⁵ -1,9 x 10 ⁻⁵)	-	24,1	21	0,29	0,32 ± 0,06
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + ½ DL _{50 OEPA}	1,5 x 10 ⁻⁶ (1,3 x 10 ⁻⁵ -1,7 x 10 ⁻⁶)	7,2 (5,7-11,1)*	18,8	18	0,40	0,87 ± 0,08
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + ¼ DL _{50 OEPA}	3,1 x 10 ⁻⁶ (2,6 x 10 ⁻⁵ -3,6 x 10 ⁻⁶)	3,5 (2,8-5,3)	19,1	14	0,16	0,97 ± 0,10
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + BPO	1,8 x 10 ⁻⁶ (1,1 x 10 ⁻⁵ -2,5 x 10 ⁻⁶)	5,9 (6,7-7,8)	27,2	18	0,08	0,60 ± 0,10
α-Cipermetrina	1,2 x 10 ⁻⁵ (9,8 x 10 ⁻⁵ -1,5 x 10 ⁻⁵)	-	15,3	17	0,58	0,59 ± 0,07
α-Cipermetrina + ½ DL _{50 OEPA}	1,6 x 10 ⁻⁶ (1,2 x 10 ⁻⁵ -2,0 x 10 ⁻⁶)	7,5 (4,9-7,8)*	16,6	18	0,55	0,64 ± 0,09
α-Cipermetrina + ¼ DL _{50 OEPA}	4,0 x 10 ⁻⁶ (3,0 x 10 ⁻⁵ -6,1 x 10 ⁻⁶)	3,1 (1,6-3,3)*	17,3	18	0,50	0,49 ± 0,06
α-Cipermetrina + BPO	5,2 x 10 ⁻⁶ (1,8 x 10 ⁻⁵ -1,1 x 10 ⁻⁴)	2,4 (0,1-5,6)	9,9	18	0,94	0,15 ± 0,04

n: número total de insetos submetidos ao ensaio; OEPA: óleo essencial de *P. aduncum*; ½ e ¼ PA: metade e um quarto da dose letal do óleo de *P. aduncum*; BPO: butóxido de piperonila; DL₅₀: doses letais que causam 50% de mortalidade dos insetos; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; FS (DL₅₀): fatores de sinergismo calculados segundo as doses letais; *: diferença significativa em relação ao FS da combinação com BPO; χ²: qui-quadrado; GL: graus de liberdade; Prob.: probabilidade; EPM: erro-padrão da média.

Tabela 2. Toxicidade da combinação de inseticidas com o óleo essencial de *Piper aduncum* L. para lagartas de *S. frugiperda* (J.E. Smith, 1797) por contato residual (n = 320).**Table 2.** Toxicity of the combinations of PAEO with insecticides against *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) larvae via residual contact (n= 320).

Combinações de inseticidas	CL ₅₀ (IC 95%) (ppm)	FS	χ ²	GL	Prob.	Coefficiente angular ± EPM
OEPA	1169,7 (698,4-1755,4)	-	23,67	20	0,06	0,52 ± 0,04
Tiametoxam + γ- Cialotrina	183,4 (101,1-284,6)	-	18,75	22	0,66	0,33 ± 0,05
Tiametoxam + γ- Cialotrina + ½ CL _{50 OEPA}	74,1 (46,6-101,9)	2,5 (2,2-2,8)	38,00	26	0,06	0,40 ± 0,06
Tiametoxam γ- Cialotrina + ¼ CL _{50 OEPA}	26,3 (20,7-32,3)	7,0 (4,9-8,8) *	12,41	32	0,99	0,34 ± 0,04
Tiametoxam + γ- Cialotrina +BPO	15,3 (12,1-18,9)	12,0 (8,4-15,1)	13,86	22	0,91	0,56 ± 0,05
γ- Cialotrina	1026,4 (521,3-3430,2)	-	17,09	18	0,52	0,16 ± 0,03
γ- Cialotrina + ½ CL _{50 OEPA}	11,7 (7,1-17,8)	87,7 (192,7-73,5) *	26,10	26	0,46	0,31 ± 0,02
γ- Cialotrina + ¼ CL _{50 OEPA}	124,8 (76,2-202,8)	8,2 (6,8-16,9)	26,36	18	0,09	0,33 ± 0,04
γ- Cialotrina + BPO	26,0 (17,7-37,3)	39,5 (29,5-92,0)	32,12	26	0,19	0,43 ± 0,04
Imidacloprido + β-Ciflutrina	8455,2 (4504,5-11636,9)	-	25,49	16	0,06	0,75 ± 0,10
Imidacloprido + β-Ciflutrina + ½ CL _{50 OEPA}	1512,6 (1056,0-20131,6)	5,6 (4,3-5,7)	16,23	18	0,58	0,42 ± 0,04
Imidacloprido + β-Ciflutrina + ¼ CL _{50 OEPA}	1195,6 (936,1-1605,8)	7,1 (4,8-7,2)	23,95	20	0,25	0,49 ± 0,05
Imidacloprido + β-Ciflutrina +BPO	120,9 (65,8-183,3)	69,9 (63,5-69,9)	36,80	25	0,06	0,37 ± 0,05
β-Ciflutrina	927,3 (779,9-1115,9)	-	20,13	15	0,17	0,90 ± 0,07
β-Ciflutrina +½ CL _{50 OEPA}	16,0 (4,5-69,8)	58,0 (16,0-73,5) *	11,21	18	0,89	0,13 ± 0,02
β-Ciflutrina+ ¼ CL _{50 OEPA}	20,6 (11,2-37,2)	45,0 (30,0-69,9) *	35,76	26	0,10	0,28 ± 0,02
β-Ciflutrina + BPO	143,9 (116,2-174,1)	6,4 (6,4-6,7)	13,82	18	0,74	0,70 ± 0,06
Teflubenzurom + α-Cipermetrina	189,5 (122,2-277,0)	-	13,92	18	0,73	0,38 ± 0,02
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + ½ CL _{50 OEPA}	0,8 (0,3-1,4)	243,6 (192,2-442,0)	17,07	18	0,52	0,25 ± 0,06
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + ¼ CL _{50 OEPA}	0,2 (0,1-0,2)	1141,6 (968,3-1294,4) *	28,54	26	0,33	0,47 ± 0,05
Teflubenzurom + α-Cipermetrina + BPO	309,1 (204,6-480,6)	638,0 (533,7-1355,6)	24,35	22	0,33	0,27 ± 0,05
α-Cipermetrina	206,3 (153,8-295,6)	-	26,76	18	0,84	0,65 ± 0,08
α-Cipermetrina + ½ CL _{50 OEPA}	10,1 (1,1-20,5)	20,4 (14,4-144,5) *	16,06	15	0,87	0,28 ± 0,05
α-Cipermetrina + ¼ CL _{50 OEPA}	29,1 (13,1-58,5)	7,1 (5,1-11,7) *	27,56	18	0,07	0,31 ± 0,06
α-Cipermetrina + BPO	309,1 (204,6-480,6)	0,7 (0,6-0,8)	24,35	22	0,33	0,34 ± 0,03

n: número total de insetos submetidos ao ensaio; OEPA: óleo essencial de *P. aduncum*; ½ e ¼ PA: metade e um quarto da concentração letal do óleo de *P. aduncum*; PBO: butóxido de piperonila; CL₅₀: concentrações letais que causam 50% de mortalidade dos insetos; IC 95%: intervalo de confiança a 95% de probabilidade; FS (DL₅₀): fatores de sinergismo calculados segundo as concentrações letais; *: diferença significativa em relação ao FS da combinação com BPO; χ²: qui-quadrado; GL: graus de liberdade; Prob.: probabilidade; EPM: erro-padrão da média.

Esses valores de letalidade definiram aqueles adotados como subdoses para as combinações sinérgicas com os inseticidas e obedeceram às seguintes proporções: 0,6 x 10⁻⁴ (½ DL₅₀ de OEPA) e 0,3 x 10⁻⁴ μL inseto⁻¹ (¼ DL₅₀ de OEPA), correspondentes à metade e a um quarto da DL₅₀, respectivamente, que foram utilizados nas avaliações por contato tópico e metade e um quarto da CL₅₀ do óleo essencial, correspondentes a 584,9 ppm (½ CL₅₀ de OEPA) e 292,4 ppm (¼ CL₅₀ de OEPA), respectivamente, que foram utilizados nas avaliações por contato residual.

Posteriormente, para avaliar o efeito sinérgico, foram realizadas combinações das doses e concentrações subletais do OEPA (metade e um quarto da DL₅₀ e CL₅₀) com as doses e concentrações subletais dos inseticidas comerciais (abaixo das DL₄₀ e CL₄₀).

Na face dorsal no pronoto das lagartas de *S. frugiperda*, aplicou-se 1,0 μL dos tratamentos a serem avaliados com auxílio de uma microsseringa graduada. As lagartas não receberam alimentação, ficando expostas aos tratamentos por 24 horas. Findo esse período, avaliou-se a mortalidade de indivíduos nessa amostra.

Para avaliar as combinações das subdoses letais de OEPA com os inseticidas, utilizou-se o mesmo procedimento adotado anteriormente, obtendo-se, assim, novas doses das combinações sinérgicas, com probabilidade de causar 50% de mortalidade das lagartas (DL₅₀).

As mesmas subdoses dos inseticidas utilizados nos tratamentos à base de óleo foram combinadas com PBO na proporção de 10:1 (PBO:inseticida) (Stewart, 1998), para comparação do efeito sinérgico de OEPA.

O cálculo do FS se baseou em Guedes et al. (1995) (FS = DL_{50} do inseticida / DL_{50} do inseticida + OEPA ou PBO). Foi considerado significativo o efeito sinérgico do OEPA quando os valores do FS e seus respectivos ICs (intervalo de confiança; $p < 0,05$), calculados para cada combinação de um determinado inseticida, eram superiores ou iguais aos valores dos FSs e do IC ($p < 0,05$) obtidos para a combinação do mesmo inseticida com PBO.

O valor do coeficiente angular das curvas de concentração-mortalidade foi utilizado no estabelecimento do aumento de toxicidade relativa promovida pelo OEPA e o PBO. Maiores coeficientes angulares indicam menor variação fenotípica na resposta da população do inseto a esses compostos.

Todos os bioensaios foram instalados no delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de cada concentração ou combinação avaliada. Foram utilizadas dez lagartas individualizadas em placas de Petri como repetição de cada tratamento, perfazendo-se um total de 40 indivíduos por tratamento. As diferentes concentrações do óleo essencial, dos inseticidas e das combinações sinérgicas foram obtidas a partir de soluções-estoque submetidas a diluições em acetona.

Para as avaliações por contato residual, utilizaram-se papéis-filtros de 5 cm de diâmetro impregnados com 0,2 mL dos tratamentos. Após a secagem, em capela de exaustão, os papéis-filtros foram colocados nas placas de Petri, recebendo cada placa uma lagarta de *S. frugiperda*. Os demais procedimentos metodológicos e estatísticos adotados foram semelhantes aos descritos para o desenvolvimento dos bioensaios de contato tóxico.

3 Resultados e Discussão

A composição do óleo essencial de *P. aduncum* (Tabela 3) apresentou como componente majoritário o dilapiol (71,9%).

Ao considerar o contato tóxico, todos os inseticidas avaliados em combinações com o OEPA apresentaram toxicidade às lagartas de *S. frugiperda* (Tabela 1). Os valores do FS, proporcionados pelo OEPA, foram significativos quando combinados nas doses equivalentes a $\frac{1}{2}$ e a $\frac{1}{4}$ de sua DL_{50} com os inseticidas lambdacialotrina e alfacipermetrina. Já para os inseticidas betaciflutrina e teflubenzuron/alfacipermetrina, a significância foi obtida apenas na combinação do OEPA equivalente a $\frac{1}{2}$ de sua DL_{50} . Não foi verificada significância no FS em nenhuma combinação das equivalências $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da DL_{50} do óleo essencial para os inseticidas imidacloprido/betaciflutrina e tiametoxan/lambdacialotrina.

O valor de FS (266,8) obtido por contato tóxico para o inseticida tiametoxan/lambdacialotrina combinado com $\frac{1}{4}$ da DL_{50} do OEPA, mesmo não sendo significativo em relação ao PBO (1.030,1), chama a atenção pela sua magnitude por representar o maior valor de FS dentre todos os inseticidas e combinações avaliadas no experimento para essa via de contaminação. Tal resultado merece uma avaliação específica do efeito sinérgico do OEPA para o tiametoxan, uma vez que os valores dos FSs obtidos para lambdacialotrina combinada com $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da DL_{50} do OEPA foram todos significativos para essa via de contaminação.

O modo diferenciado de ação dos neonicotinoides (agonistas de receptores nicotínicos da acetilcolina) e dos piretroides (moduladores de canais de sódio), segundo APRD (2016), pode estar relacionado aos níveis de detoxificação diferenciados

Tabela 3. Composição química (%) do óleo essencial de *Piper aduncum* L. utilizado como sinérgico dos inseticidas avaliados.

Table 3. Chemical composition (%) of the *Piper aduncum* L. essential oil used as synergistic of insecticides.

Compostos químicos	Porcentagem	Compostos químicos	Porcentagem
α -copaeno	0,1	(E)- β -ocimeno	0,1
α -cadinol	0,1	Elemicina	0,3
α -felandreno	0,3	<i>epi</i> -cubebol	0,4
α -humuleno	1,3	Epóxido de humuleno II	0,4
α -muurolool	0,1	(E,E)- α -farneseno	0,4
α -pineno	1,8	Ω -terpineno	1,1
α -terpineol	0,1	γ -muuroloeno	0,1
α -terpineno	0,3	Germacreno D	0,3
Aloaromadendreno	0,3	Limoneno	1,0
Apiol	0,4	Mirceno	0,2
β -cariofileno	2,6	Miristicina	0,6
β -copaeno	0,1	Ω -cadineno	0,3
β -cubebeno	0,1	Óxido de cariofileno	1,1
β -elemeno	0,3	<i>p</i> -cimeno	0,4
β -ocimeno	0,2	Perileno	0,2
β -pineno	1,5	Pentadecano	0,8
β -santaleno	0,1	Piperitona	4,6
β -sileneno	0,2	Terpinoleno	0,2
Ciclossativeno	0,2	Transcadina-1(2), 4-dieno	0,1
Cubebol	0,8	Viridiflorol	0,4
Dilapiol	71,9	4-terpineol	1,3
(E)-nerolidol	0,2	Não identificados	2,7

proporcionados pelo OEPA para os dois grupos químicos associados na mistura pronta desse inseticida. Adicionalmente, imidacloprido é um neonicotinoide, sinergizado por PBO (Basij et al., 2017) e, à semelhança do tiametoxan, não possui formulações comerciais registradas para o controle de *S. frugiperda* em milho (AGROFIT, 2016), apresentando apenas misturas prontas com piretroides, como lambdacialotrina e betaciflutrina, na intenção de aumentar a eficácia de controle desses produtos e oferecer uma opção ao manejo da resistência desse inseto pela duplicidade do modo de ação. A utilização de formulações com misturas prontas de neonicotinoides com piretroides pode estar associada à ocorrência de resistência de *S. frugiperda* aos princípios ativos pertencentes ao grupo dos piretroides ou seus derivados: lambdacialotrina e ciflutrina; cipermetrina, zetacipermetrina (APRD, 2016).

Esta, talvez, seja a razão de os inseticidas do grupo dos piretroides avaliados neste experimento serem sinergizados com OEPA, indistintamente nas duas vias de contaminação e doses subletais ou concentrações equivalentes às respectivas DL_{50} e CL_{50} do óleo essencial, uma vez que a presença do grupo metilendioxifenil em sua composição justifica o efeito sinérgico para esse grupo de inseticidas (Mukerjee & SAXENA, 1979; Bernard et al., 1990; Fazolin et al., 2016).

Por contato residual, todos os inseticidas avaliados em combinações com o OEPA também apresentaram toxicidade às lagartas de *S. frugiperda* (Tabela 2). Os valores do FS proporcionados pelo OEPA foram significativos quando combinados nas doses equivalentes a $\frac{1}{2}$ e a $\frac{1}{4}$ de sua CL_{50} com os inseticidas betaciflutrina e alfacipermetrina. Já para o inseticida lambdacialotrina, a significância do valor de FS foi constatada apenas quando combinado com $\frac{1}{2}$ da CL_{50} do OEPA. Isso também ocorreu com a combinação de $\frac{1}{4}$ da CL_{50} do OEPA com os inseticidas tiametoxan/lambdacialotrina e teflubenzuron/alfacipermetrina. Não foram constatadas significâncias dos valores de FS em nenhuma combinação das equivalências $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da DL_{50} do óleo essencial com o inseticida imidacloprido/betaciflutrina.

Os valores do FS das combinações do OEPA com os inseticidas avaliados por contato residual, com exceção de tiametoxan/lambdacialotrina na dose equivalente a $\frac{1}{4}$ de sua CL_{50} , foram superiores aos obtidos por Gist & Pless (1985) combinando cipermetrina com PBO (FS entre 1,31 e 3,1) e por Bernard & Philogene (1993) combinando gamacialotrina com esse sinérgico convencional (FS = 3,5).

O inseticida teflubenzuron/alfacipermetrina combinado com a concentração equivalente a $\frac{1}{4}$ da CL_{50} do OEPA apresentou o maior valor de FS (1.141,6) para essa via de contaminação dentre todos os obtidos para os demais inseticidas/combinações com óleo essencial. Existem vários produtos à base de benzoilfenilureias registrados para o controle de *S. frugiperda* e particularmente três são à base de teflubenzuron (AGROFIT, 2016). Esse resultado sugere que a mistura pronta dessa benzoilfenilureia com alfacipermetrina, quando em combinação com OEPA na menor proporcionalidade da CL_{50} , apresenta efeito residual mais eficaz quando comparado ao PBO. Essa resposta ao efeito sinérgico pode estar relacionada ao fato de que mesmo as formulações de misturas prontas podem favorecer a evolução da resistência para os dois princípios ativos utilizados, como é o caso do teflubenzuron associado à alfacipermetrina (APRD, 2016).

Para a via de contaminação por contato residual, foram constatados valores significativos de FS para a combinação do OEPA utilizado a $\frac{1}{4}$ da concentração letal em detrimento da ausência de significância para $\frac{1}{2}$ dessas equivalências para os inseticidas imidacloprido/betaciflutrina e teflubenzuron/alfacipermetrina. Tais resultados podem ser atribuídos às respostas das diferentes proporcionalidades das combinações dos inseticidas com o OEPA, que obedecem ao índice de equivalência, o qual classifica as combinações como aditivas, sinérgicas ou antagônicas (Ramakrishnan & Jusko, 2001).

A ausência de significância dos valores do FS para combinações do OEPA com os inseticidas tiametoxan/lambdacialotrina (contato tópico) e imidacloprido/betaciflutrina (nas duas vias de contaminação) confirma ser o PBO mais eficaz como sinérgico que o OEPA para essas condições experimentais de contaminação. Esse sinérgico inibe oxidases e esterases de lagartas de *S. frugiperda*, diminuindo a capacidade de detoxificação e aumentando, por conseguinte, a letalidade de piretroides e neonicotinoides a esse inseto (Usmani & Knowles, 2001; Basij et al., 2017), podendo elevar os valores de FS para inseticidas contendo piretroides combinados com neonicotinoides.

Na avaliação da homogeneidade de resposta comparativa, os inseticidas teflubenzuron/alfacipermetrina e alfacipermetrina (por contato tópico) (Tabela 1) e tiametoxan/lambdacialotrina e lambdacialotrina (contato residual) (Tabela 2) apresentaram maiores valores dos coeficientes angulares das curvas de dose-mortalidade quando combinados com o OEPA, independentemente da equivalência de proporcionalidade, em comparação com os coeficientes angulares dos inseticidas avaliados de forma isolada.

Uma interpretação biológica do coeficiente angular está positivamente relacionada à homogeneidade de uma determinada população, isto é, quanto maior o coeficiente angular, maior a homogeneidade dessa população, o que indica baixa variabilidade genética dentro da população avaliada, diminuindo a probabilidade de possuírem indivíduos resistentes (Hoskins & Gordon, 1956).

No entanto, a homogeneidade de resposta observada foi dependente do tipo de contaminação experimental à qual a população de *S. frugiperda* foi submetida. Assim, tiametoxan/lambdacialotrina e lambdacialotrina apresentaram heterogeneidade para contato tópico e homogeneidade para contato residual. O inverso ocorreu para os inseticidas teflubenzuron/alfacipermetrina e alfacipermetrina. Os inseticidas imidacloprido/betaciflutrina e betaciflutrina apresentaram homogeneidade de resposta para as combinações com OEPA a $\frac{1}{2}$ da DL_{50} por contaminação tópica e heterogeneidade para $\frac{1}{4}$ da DL_{50} e todas as equivalências de CL_{50} para o contato residual. Deve-se ressaltar que as combinações dos inseticidas com PBO seguiram os mesmos padrões de resposta quanto à homogeneidade de resposta que o OEPA em todas as combinações dos inseticidas, exceto alfacipermetrina, que expressou heterogeneidade independentemente do tipo de contaminação (Tabelas 1 e 2).

Como consequência das homogeneidades de respostas observadas, para pelo menos uma via de contaminação, espera-se diminuir a pressão de seleção para a resistência de lagartas de *S. frugiperda* para as combinações sinérgicas do OEPA com todos os inseticidas avaliados, isto caso se

considere que teoricamente, em uma pulverização da cultura do milho no campo, ambas as vias de contaminação poderiam ser consideradas para essa praga.

Os resultados apontam a potencialidade positiva da utilização de sinérgicos, como o OEPA, na estratégia de manejo de resistência de inseticidas provenientes de misturas prontas de diferentes princípios ativos, mediante a constatação da evolução da resistência de *S. frugiperda* a esses produtos.

4 Conclusões

O OEPA combinado com o inseticida proveniente de mistura pronta à base de imidacloprido/betaciflutrina não apresenta efeito sinérgico significativo para o controle de *S. frugiperda*, sendo PBO mais eficaz quanto a esse efeito, independentemente da via de contaminação.

O inseticida proveniente de mistura pronta à base de tiametoxan/lambdacialotrina apresenta efeito sinérgico significativo para o controle de *S. frugiperda* somente quando combinado com a concentração equivalente a 1/4 da CL_{50} do OEPA pela via de contaminação por contato residual.

O inseticida proveniente da mistura pronta à base de teflubenzuron/alfacipermetrina, combinado com o OEPA, apresenta efeito sinérgico significativo para o controle de *S. frugiperda* quando comparado com o PBO, independentemente da via de contaminação.

A homogeneidade de resposta e, conseqüentemente, a pressão de seleção sobre a população de *S. frugiperda* utilizada na avaliação apresentam variação segundo o tipo de inseticida, a forma de mistura pronta combinada com OEPA e a via de contaminação a que o inseto é submetido.

O OEPA apresenta o mesmo padrão de homogeneidade de resposta que o PBO para os inseticidas avaliados, proveniente da mistura pronta.

Referências

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Brasília: Coordenação- Geral de Agrotóxicos e Afins, 2016. Disponível em: <http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso: 12 jan. 2016.

ARTHROPOD PESTICIDE RESISTANCE DATABASE – APRD. *Spodoptera frugiperda*. Michigan: Michigan State University, 2016. Disponível em: <<http://www.pesticideresistance.com/display.php?page=species&arId=200>>. Acesso em: 13 jan. 2016.

BASIJ, M.; TALEBI, K.; GHADAMYARI, M.; HOSSEININAVEH, V.; SALAMI, S. A. Status of resistance of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) to neonicotinoids in Iran and detoxification by cytochrome P450-dependent monooxygenases. *Neotropical Entomology*, v. 46, p. 115-124, 2017.

BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; LAM, J.; WADDELL, T. In vivo effect of mixtures of allelochemicals on the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, v. 57, p. 17-22, 1990.

BERNARD, C.; PHILOGÈNE, B. J. R. Insecticides synergists: role, importance, and perspectives. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, v. 38, p. 199-233, 1993.

CURTIS, C. F. Theoretical models of the use of insecticide mixtures for the management of resistance. *Bulletin of Entomological Research*, v. 75, p. 259-265, 1985.

FARNHAM, A. W. The mode of action of piperonyl butoxide with reference to studying pesticide resistance. In: JONES, D. G. (Ed.). *Piperonyl Butoxide: the insecticide synergist*. London: Academic Press, 1998. p. 199-214.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; SILVA, I. M.; GOMES, L. P.; SILVA, M. S. F. Synergistic potential of dillapiole-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides against fall armyworm. *Ciência Rural*, v. 46, n. 3, p. 382-388, 2016.

FINNEY, D. J. *Probit analysis*. London: Cambridge University, 1971. 33 p.

GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G.P.; SAITO, T. *Pest resistance to pesticides*. New York: Plenum, 1983. p.769-792.

GIST, G. L.; PLESS, C. Synergistic activity of piperonyl butoxide with nine synthetic piretroids against the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *The Florida Entomologist*, v. 8, p. 316-320, 1985.

GOTTLIEB, O. R.; BIRIN, M. R.; KAPLAN, M. A. C. Biosynthetic interdependence of lignins and secondary metabolites in angiosperms. *Phytochemistry*, v. 40, p. 99, 1995.

GUEDES, R. N.; PICANÇO, M. C.; GUEDES, N. M. P.; MADEIRA, N. R. Sinergismo do óleo mineral sobre a toxicidade de inseticidas para *Scrobipalpula absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v. 30, p. 313-318, 1995.

HOSKINS, W. M.; GORDON, H. T. Arthropod resistance to chemicals. *Annual Review of Entomology*, v. 1, p. 89-122, 1956.

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*, v. 13, p. 269-272, 1998.

MUKERJEE, S. K.; SAXENA, V. S. TOMAR, S.S. New methylenedioxyphenyl synergists for pyrethrins. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v. 27, p. 1209-1211, 1979.

PIMENTEL, F. A.; PEREIRA, J. B. M.; OLIVEIRA, M. N. Processo de extração de óleo essencial de pimenta longa (*Piper hispidinervum*). Rio Branco, AC: Embrapa-CPAF/AC, 1998. 2 p. (Comunicado Técnico, 97).

RAMAKRISHNAN, R.; JUSKO, W. J. Interactions of aspirin and salicylic acid with prednisolone for inhibition of lymphocyte proliferation. *International Immunopharmacology*, v. 1, p. 2035-2042, 2001.

SALMERON, E.; OMOTO, C. Mistura de deltametrina e clorpirifós no manejo da resistência de *Blattella germanica* (Linnaeus, 1757) (Dictyoptera: Blattellidae) a deltametrina. *Entomotropica*, v. 19, n. 2, p. 85-89, 2004.

SAS INSTITUTE. *User's Guide: Statistics, Version 8.2*. 6th ed. Cary, NC: SAS Institute Inc., 2001. 95 p.

STEWART, D. The evaluation of synergistic action in the laboratory and field. In: JONES, D.G. (Ed.). *Piperonyl Butoxide: the insecticide synergist*. London: Academic Press, 1998. p. 173-198.

THOMAZINI, M.; FRANCO, M. R. B. Metodologia para análise dos constituintes voláteis do sabor. *Boletim da Sociedade Brasileira de Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 34, n. 1, p. 52-59, 2000.

USMANI, K. A.; KNOWLES, C. O. DEF sensitive esterases in homogenates of larval and adult *Helicoverpa zea*, *Spodoptera frugiperda*, and *Agrotis ipsilon* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal of Economic Entomology*, v. 94, p. 884-891, 2001.

WALIA, S.; SAHA, S.; PARMAR, B. S. Liquid chromatographic method for the analysis of two plant based insecticide synergists dillapiole and dihydrodillapiole. *Journal of Chromatography. A*, v. 1047, p. 229-233, 2004.

YU, S. J.; NGUYEN, S. N.; ABO-ELGHAR, G. E. Biochemical characteristics of insecticide resistance in the fall armyworm, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v. 77, p. 1-11, 2003.

Contribuição dos autores: Murilo Fazolin - Responsável pela gestão no planejamento, implantação, execução, e análises estatísticas do projeto. Responsável pela redação do artigo; Joelma Lima Vidal Estrela - Responsável pela montagem de experimentos, avaliações e redação científica e auxiliar nas análises estatísticas; André Fábio Medeiros Monteiro - Responsável pela coordenação do laboratório, criação de insetos utilizados no experimento, participação nas avaliações experimentais e redação/ correção da redação científica; Luiara Paiva Gomes - Responsável pela criação de insetos utilizados no experimento, participação nas avaliações experimentais, levantamento bibliográfico e correção redação científica; Iriana Maria da Silva - Responsável pela criação de insetos utilizados no experimento, participação na montagem e avaliações de experimentos e correção redação científica; Maria Sâmylla de Farias Silva - Responsável pela criação de insetos utilizados no experimento, participação na montagem e avaliações de experimentos e correção redação científica.

Agradecimentos: Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pela concessão das bolsas de Iniciação Científica para as alunas da UNINORTE.

Fonte de financiamento: CNPq.

Conflito de interesse: Os autores declaram não haver conflito de interesse.