

## Sinergista de Origem Vegetal em Combinação com Inseticidas Inibidores da Biossíntese de Quitina

Murilo Fazolin<sup>1</sup>, André Fábio Medeiros Monteiro<sup>2</sup>, Joelma Lima Vidal Estrela<sup>3</sup>, Iriana Maria da Silva<sup>4</sup> e Maria Samylla de Farias Silva<sup>5</sup>

<sup>1</sup>Engenheiro-agrônomo, doutor em Entomologia, pesquisador da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>2</sup>Biólogo, mestre em Ecologia, analista da Embrapa Acre, Rio Branco, AC.

<sup>3</sup>Engenheira-agrônoma, mestre em Entomologia, Rio Branco, AC.

<sup>4</sup>Bióloga, mestre em Ciência e Inovação Tecnológica, Rio Branco, AC.

<sup>5</sup>Bióloga, professora da rede particular de ensino, Rio Branco, AC.

**Resumo** – Alagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, é uma espécie polifágica que se alimenta de plantas cultivadas em várias áreas do continente americano. No Brasil, os danos causados por essa praga na cultura de milho variam de 20% a 100%. A dependência de pesticidas para controlá-la levou ao desenvolvimento de resistência a esses produtos em muitas regiões do mundo. Os inseticidas do grupo benzoilfenilureia, lufenuron e triflumuron controlam com eficácia essa praga. No entanto, o uso intensivo desses inseticidas pode reduzir sua eficiência devido à evolução da resistência. O óleo rico em dilapiol, obtido de plantas de *Piper aduncum* L. (Oepa) abundantes na Amazônia, é uma opção para produzir lignanas sinérgicas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito sinérgico para essa praga de doses subletais do Oepa (0,24 e 0,12 x 10<sup>-4</sup> µL mg inseto<sup>-1</sup>) em combinação com lufenuron e triflumuron, em bioensaios de ingestão. A dieta artificial contendo triflumuron (1% e 0,001% v v<sup>-1</sup>) e lufenuron (3% e 0,03% v v<sup>-1</sup>), combinada com a dose subletal do Oepa, reduz o TL<sub>50</sub> das larvas em até 22 horas e 18 minutos e 29 horas e 36 minutos, respectivamente. Conclui-se, pelo presente estudo, a alta eficácia sinérgica do Oepa para os inseticidas lufenuron e triflumuron.

Termos para indexação: inseticidas reguladores de crescimento, sinergismo, óleo essencial.

## Introdução

No Brasil há relatos de evolução da resistência de *S. frugiperda* (J. E. Smith, 1797) para os principais grupos químicos de ingredientes ativos (Oliveira, 2017).

Inseticidas seletivos como os inibidores de biossíntese de quitina como as benzoilfenilureias são opções de interesse aos produtores, pois atuam principalmente na cutícula do inseto, exercendo ação tóxica sobre as formas imaturas durante a ecdise. Isso causa dificuldades para liberação da exúvia, podendo resultar na morte do inseto (Beeman, 1982). Interfere também de forma negativa na formação da membrana peritrófica, que recobre o intestino médio dos insetos, ocasionando transtornos digestivos (Clarke et al., 1977).

Para o controle de larvas de *S. frugiperda* na cultura do milho, aproximadamente 35% dos inseticidas à base de benzoilureias são formulados com triflumuron e lufenuron (Agrofit, 2020), considerados como uma geração mais moderna desse grupo químico. No entanto, devido ao uso frequente e muitas vezes inadequado desses compostos, a evolução da resistência dos insetos é uma consequência inevitável. No Brasil a evolução da resistência de *S. frugiperda* foi constatada para o princípio ativo lufenuron (Nascimento et al., 2016) e no México e Porto Rico para o triflumuron (Gutiérrez-Moreno et al., 2019).

A evolução da resistência de *Plutella xylostella* (L., 1758) (Lepidoptera: Plutellidae) ao lufenuron no Brasil pode ser constatada no mesmo ano de seu registro, em 2011. Para *S. frugiperda*, os casos de resistência ao lufenuron ocorreram 4 anos após o seu registro.

De forma semelhante, foi observada uma rápida evolução da resistência de *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) ao triflumuron, cujo registro havia sido realizado em 2010, ocorrendo indivíduos resistentes em 2011 (Oliveira, 2017).

Como a resistência aos inseticidas reguladores de crescimento está normalmente relacionada, dentre outros fatores, à de outros grupos químicos de princípios ativos, é esperada a curto prazo a evolução da resistência de *S. frugiperda* também ao triflumuron no Brasil.

Dentre as estratégias que podem ser adotadas para o manejo da resistência de insetos, a saturação utiliza compostos sinérgicos para bloquear processos metabólicos relacionados (Georghiou, 1983).

Há evidências de que o óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Piperaceae) (Oepa) sinergiza inseticidas dos grupos químicos dos carbamatos, fosforados e piretroides (Parmar; Tomar, 1983; Bernard; Philogène, 1993; Bertrand, 1992; Fazolin et al., 2015, 2016a, 2016b, 2016c, 2017).

Dessa forma, este trabalho se propôs a avaliar o efeito sinérgico por ingestão do Oepa combinado com os inseticidas à base de lufenuron e triflumuron, com a finalidade de disponibilizar uma nova ferramenta para o manejo da resistência de *S. frugiperda* na cultura do milho.

## Material e métodos

Plantas adultas de *P. aduncum* foram colhidas em uma área de produção localizada na Embrapa Acre. 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 foi obtido em um extrator por arraste de vapor utilizando sistema de caldeira aquecida a diesel.

A análise cromatográfica do óleo foi efetuada em cromatógrafo a gás (CG) HP5890, equipado com coluna de sílica fundida Agilent HP5. O óleo apresentou como componente majoritário o dilapiol (79,7%).

Os inseticidas comerciais à base de triflumuron 480 g/L e lufenuron 50 g/L foram adquiridos em casas de comercialização de agrotóxicos. O butóxido de piperonila (PBO), sinérgico mais utilizado em formulações comerciais considerado como controle positivo, foi de grau técnico de 90% da Sigma-Aldrich.

Larvas de *S. frugiperda* de terceiro instar foram obtidas da criação artificial em laboratório, alimentadas com dieta à base de feijão, produzida adicionando-se os diferentes tratamentos avaliados.

Os inseticidas foram diluídos em acetona nas seguintes concentrações: triflumuron (1%, 0,1%, 0,01%, 0,001% e 0,0001% v v<sup>-1</sup>) e lufenuron (3%, 0,3%, 0,03%, 0,003% e 0,0003% v v<sup>-1</sup>), que compuseram os tratamentos para avaliação inseticida de forma isolada. Posteriormente, uma nova série de concentrações foi obtida, adicionando-se a cada uma delas (dos inseticidas triflumuron e lufenuron), 0,0422% v v<sup>-1</sup> do Oepa (equivalente a ½ da DL<sub>50</sub> que é de 4,9 x 10<sup>-4</sup> µL mg inseto<sup>-1</sup>), compondo-se assim os tratamentos de combinações sinérgicas.

Além disso, foi avaliado um tratamento testemunha, tendo somente acetona, utilizada como diluente dos princípios ativos, adicionada à dieta. Uma testemunha positiva também foi incluída, consistindo das concentrações de 1% v v<sup>-1</sup> do inseticida à base de triflumuron e 3% v v<sup>-1</sup> do inseticida à base de lufenuron, que receberam a adição de 10% e 30% v v<sup>-1</sup> de PBO, respectivamente (equivalente a dez vezes a concentração de cada um deles).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado com quatro repetições, contendo cada uma delas dez lagartas de *S. frugiperda*, individualizadas em copos plásticos descartáveis com capacidade para 50 mL, aprisionadas por uma tampa de acrílico, contendo um cubo de dieta contaminada com cada um dos tratamentos a serem avaliados. Dessa forma foi caracterizada uma parcela experimental.

Diariamente foi avaliada a mortalidade das lagartas, caracterizada pela ausência completa de movimentos.

Curvas de sobrevivência foram utilizadas para analisar as diferenças entre a mortalidade dos insetos submetidos a cada inseticida e suas combinações sinérgicas. Utilizou-se o procedimento PROC LIFETEST, que proporcionou as estimativas de tempo médio de sobrevivência (TL<sub>50</sub>) para os insetos sujeitos a cada tratamento (SAS Institute, 2001). Foram considerados como significativos os valores do TL<sub>50</sub> obtidos para as combinações dos inseticidas com o Oepa, com seus respectivos intervalos de confiança (IC p < 0,05%), menores que os valores obtidos com a combinação dos inseticidas com PBO (testemunha positiva), demonstrando maior toxicidade sinérgica.

## Resultados e discussão

Os valores do TL<sub>50</sub> para larvas de *S. frugiperda* alimentadas com a dieta contaminada com o inseticida à base de lufenuron foram significativamente menores no intervalo de concentrações entre 3% e 0,03% v v<sup>-1</sup>, quando comparados ao PBO (132,8 horas), independentemente de estarem combinadas ou não ao Oepa. Nesse intervalo de concentrações, os valores da TL<sub>50</sub> variaram de 51,7 horas a 83,4 horas, respectivamente, para o inseticida tomado isoladamente. Já para as combinações com o Oepa a 0,0422% v v<sup>-1</sup> (½ da DL<sub>50</sub>), o intervalo de TL<sub>50</sub> foi de 32,2 horas a 53,8 horas, respectivamente. Esses resultados apontam a significância do efeito sinérgico das combinações do inseticida à base de lufenuron com o Oepa, uma vez que ocorreu uma redução significativa dos TL<sub>50</sub> em todas as combinações desse óleo com o inseticida considerado de forma isolada.

As demais concentrações do inseticida à base de lufenuron (0,003% e 0,0003% v v<sup>-1</sup>), consideradas de forma isolada ou em combinação ao Oepa, não apresentaram significância no tempo letal de mortalidade quando comparadas à combinação com o PBO.

Nas combinações sinérgicas do lufenuron com doses subletais de Oepa, os fatores de sinergismo (FS) foram significativos quando comparados aos valores de FS das combinações do inseticida com PBO. Tal resultado permite inferir que, hipoteticamente, não há uma predominância do envolvimento de enzimas detoxificativas do complexo P450 para a biodegradação do lufenuron, uma vez que o PBO inibe tais enzimas (Pimprikar; Georghiou, 1979).

A adição do inseticida à base de triflumuron à dieta de alimentação proporcionou valores do TL<sub>50</sub> para larva de *S. frugiperda* significativamente menores para a maioria das concentrações no intervalo de 1% a 0,001% v v<sup>-1</sup>, independentemente de estarem combinadas ou não ao Oepa (0,0422% v v<sup>-1</sup>), quando comparados ao PBO (112,3 horas).

Nas concentrações de triflumuron 1% e 0,01% v v<sup>-1</sup> tomadas de forma isolada, os valores significativos dos TL<sub>50</sub> variaram entre 51,3 horas e 87,6 horas, respectivamente. Esse intervalo de tempo diminuiu significativamente, passando a variar entre 42,5 horas e 84,3 horas, para as concentrações de triflumuron entre 1% e 0,001% v v<sup>-1</sup> combinadas com o Oepa.

Esses resultados apontam a significância do efeito sinérgico das combinações do triflumuron com o Oepa, no intervalo de concentrações entre 1% e 0,001% v v<sup>-1</sup>. No entanto, na comparação entre essas mesmas concentrações do inseticida com suas respectivas combinações com o Oepa, ocorreram reduções significativas de TL<sub>50</sub> somente no intervalo de concentrações entre 0,1% e 0,001% v v<sup>-1</sup>.

A concentração de triflumuron de 0,0001% v v<sup>-1</sup>, considerada de forma isolada ou em combinação ao Oepa, não apresentou redução significativa no tempo letal de mortalidade quando comparada à combinação com o PBO.

Esse inseticida em algumas concentrações combinadas com doses subletais de Oepa apresentou valores de FS não significativos quando comparados aos valores do FS das combinações com PBO. Nesse caso, pode-se inferir que a inibição destoxificativa enzimática predominante pode estar relacionada à monooxigenase P450. No entanto, a magnitude dos valores de FS dessas combinações, embora significativamente inferiores às com PBO, pode indicar a ação de outras enzimas destoxificativas como esterases e glutatona S-transferases, no processo de eliminação desse xenobiótico (Granett; Hejazi, 1983).

Tanto o inseticida à base de triflumuron como de lufenuron, combinados com Oepa, utilizados na experimentação, mostraram alta eficácia toxicológica ao ser ingeridos junto à dieta alimentar, uma vez que quando considerados de forma isolada apresentaram, em geral, valores de TL<sub>50</sub> significativamente superiores nas concentrações abaixo daquela recomendada para aplicação no campo de 0,15% e 0,10% v v<sup>-1</sup>, respectivamente (Agrofit, 2020).

O triflumuron combinado com doses subletais do Oepa entre 1% e 0,001% v v<sup>-1</sup>, próximas à concentração recomendada para uso no campo, apresentou uma redução do tempo de vida das larvas de *S. frugiperda* na ordem de 8 horas e 48 minutos e 22 horas e 18 minutos, respectivamente.

Da mesma forma, o inseticida à base de lufenuron combinado com doses subletais do Oepa e no intervalo de concentrações entre 3% e 0,03% v v<sup>-1</sup>, próximas à recomendada para uso no campo, apresentou uma redução do tempo de vida das larvas de *S. frugiperda* na ordem de 19 horas e 30 minutos e 29 horas e 36 minutos, respectivamente, demonstrando que as formulações sinérgicas desse inseticida com Oepa são mais eficazes que o triflumuron.

A magnitude da eficácia pode ser explicada pela provável diferença do tempo de retenção do inseticida no corpo das larvas (Neumann; Guyer, 1987), embora essa variável não tenha sido mensurada. Outra hipótese que poderia ser levantada está relacionada à velocidade do transporte do xenobiótico do intestino ao local de ação ou sua estabilidade dentro do inseto (Neumann; Guyer, 1983; Granett et al., 1980).

## Conclusões

O óleo essencial de *Piper aduncum* L. apresenta efeito sinérgico significativo para os inseticidas à base de lufenuron e triflumuron por ingestão de dieta contaminada.

Concentrações entre 1% e 0,001% v v<sup>-1</sup> do inseticida à base de triflumuron, combinadas com a subdose letal do Oepa de 0,24 x 10<sup>-4</sup> µL mg inseto<sup>-1</sup>, apresentaram uma redução do tempo de vida das larvas de *S. frugiperda* entre 8 horas e 48 minutos e 22 horas e 18 minutos.

Concentrações entre 3% e 0,03% v v<sup>-1</sup> do inseticida à base de lufenuron, combinadas com a subdose letal do Oepa de 0,24 x 10<sup>-4</sup> µL mg inseto<sup>-1</sup>, apresentaram uma redução do tempo de vida das larvas de *S. frugiperda* entre 19 horas e 30 minutos e 29 horas e 36 minutos.

## Referências

- AGROFIT: Sistema de Agrotóxicos Fitossanitário. **Controle químico de *Spodoptera frugiperda***. Disponível em: [http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](http://extranet.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons). Acesso em: 15 mar. 2020.
- BEE MAN, R. W. Recent advances in mode of action of insecticides. **Annual Review of Entomology**, v. 27, p. 253-281, Jan. 1982. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.en.27.010182.001345>.
- BERNARD, C. B.; PHILOGÈNE, B. J. R. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. **Journal of Toxicology and Environmental Health: Part A Current Issues**, v. 38, n. 2, p. 199-223, Feb. 1993. DOI: <https://doi.org/10.1080/15287399309531712>.
- BERTRAND, M. C. **Etudes toxicocinetiques et synergiques de l'azadirachtine dihydrogénée chez la pyrale du maïs, *Ostrinia nubilis***. 1992. 129 f. (Thèses) – Université d'Ottawa, Ottawa.
- CLARKE, L.; TEMPLE, G. H. R.; VINCENT, J. F. V. The effects of a chitin inhibitor – Dimilin – on the production of peritrophic membrane in the locust, *Locusta migratoria*. **Journal of Insect Physiology**, v. 23, n. 2, p. 241-246, 1977. DOI: [https://doi.org/10.1016/0022-1910\(77\)90037-3](https://doi.org/10.1016/0022-1910(77)90037-3).
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; GOMES, L. P.; SILVA da I. M.; SILVA, M. S. de F. Sinérgico alternativo para o manejo da resistência da lagarta do cartucho do milho a piretroides. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 14, n. 3, p. 316-325, 2015. DOI: <http://dx.doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v14n3p316-325>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. V. E.; MONTEIRO, A. F. M.; SILVA, I. M. da; GOMES, L. P.; SILVA, M. S. de F. Combining the essential oil of *Piper aduncum* L. with commercial insecticides. **Semina Ciências Agrárias**, v. 37, n. 6, p. 3903-3914, nov./dez. 2016a. DOI: <http://dx.doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p3903>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; SILVA da I. M.; GOMES, L. P.; SILVA, M. S. de F. Synergistic potential of dillapiole-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides against fall armyworm. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, p. 382-388, 2016b. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141500>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; GOMES, L. P.; SILVA, I. M. da; SILVA, M. S. de F. Potencial sinérgico do óleo de *Piper aduncum* para inseticidas formulados com misturas de princípios ativos. **Revista de Ciências Agrárias Amazonian Journal of Agricultural and Environmental Sciences**, v. 59, n. 4, p. 362-369, 2016c. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141500>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MONTEIRO, A. F. M.; SILVA, I. M.; GOMES, L. P. Sinérgico alternativo para inseticidas inibidores de acetilcolinesterase. **Revista Agro@ambiente**, v. 11, n. 3, p. 232-240, July 2017. DOI: <http://dx.doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i3.3995>.
- GEORGHIOU, G. P. Management of resistance in arthropods. In: GEORGHIOU, G. P. (ed.). **Pest resistance to pesticides**. Boston, MA: Springer, 1983. p. 769-792.

- GRANETT, J.; ROBERTSON, J.; RETNAKARAN, A. Metabolic basis of differential susceptibility of two forest lepidopterans to diflubenzuron. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 28, n. 3, p. 295-300, Nov. 1980. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1980.tb03029.x>.
- GRANETT, J.; HEJAZI, M. J. Synergism of two benzoylphenyl urea insect growth regulators. **Journal of Economic Entomology**, v. 76, n. 3, p. 403-406, June 1983. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/76.3.403>.
- GUTIÉRREZ-MORENO, R.; MOTA-SANCHEZ, D.; BLANCO, C. A.; WHALON, M. E.; TERÁN-SANTOFIMIO, H.; RODRIGUEZ-MACIEL, J. C.; DIFONZO, C. Field-evolved resistance of the fall armyworm (Lepidoptera: Noctuidae) to synthetic insecticides in Puerto Rico and Mexico. **Journal of Economic Entomology**, v. 112, n. 2, p. 792-802, Mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/toy372>.
- NASCIMENTO, A. R. B. D.; FARIAS, J. R.; BERNARDI, D.; HORIKOSHI, R. J.; OMOTO, C. Genetic basis of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) resistance to the chitin synthesis inhibitor lufenuron. **Pest Management Science**, v. 72, n. 4, p. 810-815, Apr. 2016. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.4057>.
- NEUMANN, R.; GUYER, W. A new chitin synthesis inhibitor CGA 112'913: its biochemical mode of action as compared to diflubenzuron. In: INTERNATIONAL CONGRESS PLANT PROTECTION, 10., 1983, Brighton, EN. **Proceedings...** Brighton, UK: British Crop Protection Council, 1983. V. 1, p. 445-451.
- NEUMANN, R.; GUYER, W. Biochemical and toxicological differences in the modes of action of the benzoylureas. **Pesticide Science**, v. 20, n. 2, p. 147-156, 1987.
- OLIVEIRA, I. M. de. **Resistência de artrópodes de importância agrícola ao controle químico**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- PARMAR, B. S.; TOMAR, S. S. Review of research on insecticide synergists in India-retrospect and prospect. **International Journal of the Tropical Agriculture**, v. 1, n. 1, p. 7-17, 1983.
- PIMPRIKAR, G. D.; GEORGHIOU, G. P. Mechanisms of resistance to diflubenzuron in the house fly, *Musca domestica* (L.). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 12, n. 1, p. 10-22, Aug. 1979. DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(79\)90089-0](https://doi.org/10.1016/0048-3575(79)90089-0).
- SAS Institute. **User's guide**: statistics, version 8.2. 6. ed. Cary, NC, 2001. 95 p.