



REDUÇÃO DA DOSE COMERCIAL DE ORGANOFOSFORADOS SINERGIZADOS COM ÓLEO DE PIMENTA-DE-MACACO PARA O CONTROLE *SPODOPTERA FRUGIPERDA* (J. E. SMITH, 1797) EM PLANTAS DE MILHO.

Iriana Maria da Silva¹, Murilo Fazolin²

Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária - Acre
ana_rbo@hotmail.com; murilo.fazolin@embrapa.br

Palavras-chave: pimenta-de-macaco, citocromo P-450, esterases

INTRODUÇÃO

O Brasil é o terceiro maior produtor mundial de milho e com essa expansão os problemas fitossanitários tem se agravado, dentre as pragas, a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* J. E. Smith é umas das principais (Viana, 1994). O controle de *S. frugiperda* tem sido realizado principalmente pelo uso de produtos químicos. Sabe-se que o uso indiscriminado de um produto químico pode levar à evolução da resistência, que segundo a Organização Mundial de Saúde (OMS) é população de uma espécie que desenvolve a capacidade de suportar doses de inseticidas que seriam letais para uma população normal de organismos da mesma espécie.

Organofosforados, assim como os carbamatos, possuem a característica de inibição da acetilcolinesterase, que segundo Alves et al. (2010) é uma amina produzida no citoplasma das terminações nervosas, sua percussora é uma vitamina pertencente ao complexo B, a colina que é obtida a partir da alimentação ou da própria degradação da acetilcolina por uma enzima específica. Os organofosforados também se ligam ao sítio ativo das esterases e a inibem irreversivelmente, gerando um acúmulo de acetilcolina, resultando na morte do inseto (Healy et al., 1991).

A ação do sinergista minimiza a quantidade de inseticida químico necessária para o controle de insetos, pois age como um substrato alternativo, inibindo a capacidade do inseto de desintoxicar o inseticida (Casida, 1970), aumentando assim a letalidade dos mesmos nas populações resistentes (Brindley & Selim 1990). Além disso, os sinergistas, quando misturados com inseticidas, podem minimizar a contaminação ambiental dos resíduos de inseticidas persistentes e preservar insetos benéficos, como indicaram (Raffa & Priester 1985). Rocha & Ming (1999) destacam que dentre os sinergistas o butóxido de piperonila tem sido o de maior utilização industrial. Piperáceas como



Piper aduncum L. são abundantes no Acre, sendo o processo de industrialização semelhante ao utilizado para obtenção do óleo rico em safrol a partir de *P. hispidinervum* (Fazolin et al., 2006). O óleo essencial dessa espécie é composto por dilapiol (Fazolin et al., 2007), cuja estrutura química apresenta também o grupo metilenodioxifenil a dois grupos metoxila (OCH₃). Esses compostos apresentam potencialmente a capacidade de interferência nas funções do citocromo P-450 dos insetos, podendo alterar o processo de desintoxicação, responsável pela resistência dos insetos aos inseticidas (Nagabu & Lakshnmaiah, 1994 e Janiaud et al. 1997).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito sinérgico do óleo essencial de *P. aduncum*, em combinação com os inseticidas do grupo químico dos organofosforados, visando à redução da dose comercial recomendada para o controle de *S. frugiperda*.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 OBTENÇÃO DO ÓLEO ESSENCIAL DE *P. aduncum* E INSETICIDA A SER AVALIADO

Plantas adultas de *P. aduncum* foram coletadas na Coleção de Germoplasma da Embrapa Acre, cortadas a 0,4 m do solo, separando-se somente as folhas para processamento. A massa vegetal foi submetida à secagem por seis dias em secador solar, até atingir de 20 a 30% de umidade, sendo revolvidas duas vezes ao dia para facilitar a aeração. Foram colocadas 500 g de folhas e 2,0 L de água em balão de fundo redondo de 5L. A seguir as misturas foram submetidas ao processo de hidrodestilação, utilizando-se aparelho tipo Clevenger dotado de equalizador de pressão. Após a decantação do óleo foi utilizado o processo de desidratação com sulfato de magnésio anidro.

Os inseticidas avaliados a base de Profenofós, Parathion Metílico e Clorpirifós foram adquiridos no comércio local.

2.2 MONTAGEM EXPERIMENTAL

Os experimentos foram realizados em ambiente telado com cobertura de vidro, na Embrapa Acre. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com dez repetições de oito tratamentos: 1- Inseticida na dose comercial (DC); 2- Inseticida meia dose comercial (1/2 DC); 3- Inseticida um quarto da dose comercial (1/4 DC); 4- Inseticida 1/2 DC + meia concentração letal de óleo de *P. aduncum* (PA. 1/2 CL₅₀) ; 5- Inseticida 1/2 DC + um quarto da concentração letal de óleo de *P. aduncum* (PA. 1/4 CL₅₀); 6- Inseticida 1/4 DC + PA. 1/2 CL₅₀; 7- Inseticida 1/4 DC + PA. 1/4 CL₅₀ e 8- Testemunha: Pulverização com água.

I SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE



Quanto ao óleo essencial de *P. aduncum* foi inicialmente determinada em condições de laboratório a CL_{50} tomando-se como sinérgico metade dessa dose e a quarta parte da dose letal 50, equivalendo a 120 e 60 ml/ha respectivamente.

Todas as combinações (tratamentos) foram diluídas em água, repetindo-se cada experimento duas vezes.

No caso dos tratamentos com a adição de óleo de *P. aduncum*, foi adicionada 2 a 3 gotas de Tween 80. Os experimentos foram repetidos duas vezes consecutivas.

Foram plantadas sementes de milho da variedade BR 467, em vasos de barro com capacidade para três litros de terra, que após a emissão das primeiras folhas para a formação do cartucho, sofrerão desbaste, permanecendo uma planta por vaso, constituindo-se em uma parcela experimental. Cada planta foi tutorada com uma haste de ferro para que não haja tombamento da planta durante o manuseio. Telas de nylon foram colocadas sobre o solo dos vasos evitando a fuga da lagarta por penetração no mesmo.

Após quinze dias do plantio, as plantas foram pulverizadas com 50 ml em cada tratamento, de forma que o jato pulverizador molhe toda a planta, priorizando o cartucho. Para isso, foi utilizada uma pistola pressurizada alimentada por um compressor com pressão de trabalho entre 80 e 100 PSI. Após a pulverização, cada planta foi infestada com uma lagarta de *S. frugiperda* utilizando um pincel fino. As lagartas submetidas aos tratamentos foram do terceiro instar, provenientes da criação de laboratório e aclimatadas no telado durante quatro dias.

2.3 AVALIAÇÕES

As avaliações foram realizadas 24, 72, 144 e 216 horas após a montagem do experimento, consistindo na contagem do número de lagartas mortas em cada tratamento e atribuição de notas de 0 a 5, relativas aos danos causados por elas às plantas de milho, seguindo a metodologia de Carvalho (1970). Foram submetidos à análise de variância o número médio de indivíduos mortos durante o período experimental, assim como a média das notas de danos. Esses valores servirão para a comparação dos tratamentos aplicando-se o teste de Scott & Knott (1974).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Analisando o tempo de mortalidade das lagartas em suas combinações com o inseticida a base de Profenofós e o óleo essencial de *P. aduncum*, observamos que houve diferença significativa

I SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE



apenas no tratamento $\frac{1}{4}$ DC + $\frac{1}{2}$ PA, onde diferiu de todas as outras doses, inclusive de $\frac{1}{4}$ DC. Quanto ao dano causado às folhas, $\frac{1}{4}$ DC não diferiu significativamente de suas doses com adição de sinérgico, porém $\frac{1}{2}$ DC combinadas com $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da CL_{50} de *P. aduncum* diferiram negativamente da dose sem sinérgico (Tabela 1). Com relação a variável tempo de mortalidade das combinações de Profenofós com Butóxido de Piperonila (BPO), observa-se que apenas um quarto da dose comercial diferiu significativamente da mesma dose sem adição de sinérgico (em destaque na tabela 1), indicando a eficácia do óleo. Já com relação a variável dano, na qual podemos considerar mais importante agronomicamente, observou-se que apenas um quarto da dose comercial apresentou diferença significativa da mesma dose aplicada sem sinérgico.

Quanto ao tempo de mortalidade dos insetos nas combinações do inseticida a base de Parathion Metílico com o óleo essencial de *P. aduncum*, não houve diferença significativa em nenhuma das combinações, sejam elas com $\frac{1}{2}$ ou $\frac{1}{4}$ da CL_{50} do sinérgico. Com relação a variável dano, tanto $\frac{1}{2}$ como $\frac{1}{4}$ da dose comercial, sinergizadas respectivamente com $\frac{1}{4}$ e $\frac{1}{2}$ da CL_{50} de *P. aduncum* diferiram das suas doses sem a adição de óleo (Tabela 1). Ainda se referindo ao dano, deve ser ressaltado que as combinações citadas diferiram da dose comercial, causando um dano menor à planta. Quando se utilizou como sinérgico o Butóxido de Piperonila, apenas $\frac{1}{4}$ DC diferiu da dose sem BPO no tempo de mortalidade, na variável dano $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ DC diferiram negativamente das relativas sem sinérgico.

Na variável tempo de mortalidade das lagartas nas combinações com do inseticida a base de Clorpirifós e *P. aduncum*, somente $\frac{1}{4}$ DC combinadas com $\frac{1}{2}$ e $\frac{1}{4}$ da CL_{50} de *P. aduncum* apresentou diferença significativa em relação ao inseticida aplicado de forma isolada. Quanto ao dano, $\frac{1}{4}$ da dose comercial combinada com o óleo essencial diferiu significativamente da mesma dose sem o óleo, além disso, essa combinação não diferiu da dose comercial, demonstrando a eficiência do óleo. Quanto às combinações de Clorpirifós com Butóxido de Piperonila, houve diferença significativa apenas no tratamento $\frac{1}{4}$ DC + BPO e o mesmo sem sinérgico, com relação ao tempo de mortalidade. Na variável dano, $\frac{1}{2}$ da dose comercial sinergizada diferiu de todas as outras combinações, inclusive a mesma sem adição do sinérgico e apresentou dano e resultado melhor que a dose comercial (Tabela 1).



Tabela 1: Tempo de mortalidade da lagarta *S. frugiperda* e danos causados ao cartucho do milho das plantas pulverizadas com os inseticidas a base de Profenofós, Parathion Metílico e Clorpirifós combinados com os óleos essenciais de *P. aduncum* e Butóxido de Piperonila.

PROFENOFÓS										
Combinações de Profenofós + <i>P. aduncum</i>					Combinações de Profenofós + Butóxido de Piperonila					
Tratamentos	T		Tratamentos	D		Tratamentos	T		Tratamentos	D
DC	1,4	a	DC	0,3	a	½ DC + BPO	4,5	a	DC	2,3
½ DC + ½ PA	1,8	a	½ DC	0,4	a	DC	4,8	a	½ DC	2,4
¼ DC + ¼ PA	1,8	a	½ DC + ½ PA	1,0	b	½ DC	5,0	a	¼ DC + BPO	3,1
½ DC	2,0	a	½ DC + ¼ PA	1,2	b	¼ DC + BPO	5,5	a	½ DC + BPO	3,2
½ DC + ¼ PA	2,5	a	¼ DC + ¼ PA	1,2	b	¼ DC	7,0	b	¼ DC	3,9
¼ DC	2,5	a	¼ DC	1,3	b	Testemunha	8,3	b	Testemunha	3,9
¼ DC + ½ PA	3,8	b	¼ DC + ½ PA	1,4	b					
Testemunha	5,7	c	Testemunha	3,4	c					
CV (%)	26,64%		CV (%)	25,37%		CV (%)	14,41%		CV (%)	14,89%
PARATHION METÍLICO										
Combinações de Parathion Metílico + <i>P. aduncum</i>					Combinações de Parathion Metílico + Butóxido de Piperonila					
Tratamentos	T		Tratamentos	D		Tratamentos	T		Tratamentos	D
DC	1,6	a	½ DC + ¼ PA	0,8	a	DC	1,5	a	DC	0,3
½ DC + ½ PA	1,8	a	¼ DC + ½ PA	0,9	a	½ DC	1,5	a	½ DC	0,3
½ DC	2,6	a	¼ DC + ¼ PA	1,3	b	½ DC + BPO	1,8	a	½ DC + BPO	0,7
¼ DC	2,8	a	DC	1,3	b	¼ DC	1,8	a	¼ DC	1,0
½ DC + ¼ PA	3,0	a	½ DC	1,3	b	¼ DC + BPO	3,6	b	¼ DC + BPO	1,4
¼ DC + ½ PA	3,1	a	½ DC + ½ PA	1,5	b	Testemunha	6,5	c	Testemunha	3,1
¼ DC + ¼ PA	3,4	a	¼ DC	1,9	b					
Testemunha	7,9	b	Testemunha	3,4	c					
CV (%)	32,34%		CV (%)	28,8%		CV (%)	17,79%		CV (%)	6,0%
CLORPIRIFÓS										
Combinações de Clorpirifós + <i>P. aduncum</i>					Combinações de Clorpirifós + Butóxido de Piperonila					
Tratamentos	T		Tratamentos	D		Tratamentos	T		Tratamentos	D
DC	3,2	a	¼ DC + ½ PA	2,5	a	DC	4,3	a	½ DC + BPO	1,5
½ DC + ½ PA	3,4	a	DC	2,7	a	½ DC	4,4	a	DC	2,5
½ DC + ¼ PA	3,8	a	½ DC + ½ PA	3,4	b	½ DC + BPO	4,6	a	½ DC	2,5
¼ DC	3,9	a	½ DC	3,5	b	¼ DC	5,6	b	¼ DC	2,5
½ DC	4,0	a	¼ DC	3,5	b	¼ DC + BPO	6,6	c	¼ DC + BPO	2,6
¼ DC + ½ PA	4,4	b	¼ DC + ¼ PA	3,6	b	Testemunha	8,0	d	Testemunha	3,1
¼ DC + ¼ PA	4,6	b	½ DC + ¼ PA	3,6	b					
Testemunha	6,6	c	Testemunha	4,2	c					
CV (%)	12,67%		CV (%)	12,61%		CV (%)	13,4%		CV (%)	22,28%

T= Tempo decorrido para mortalidade dos insetos; D= Nota de danos causados ao cartucho das plantas de milho; DC= Dose comercial (Profenofós: equivalente a 500 ml/ha; Parathion Metílico: equivalente a 650 ml/ha; Clorpirifós: equivalente a 500 ml/ha); ½ e ¼ PA= Metade da dose letal 50 e a quarta parte da dose letal 50, respectivamente obtidas em condições de laboratório para os óleos essenciais *P. aduncum* (equivalente a 120 e 60 ml/ha, respectivamente); BPO= Butóxido de Piperonila equivalente a 1ml/litro de calda; Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem significativamente entre si pelo teste de Scott & Knott a 5% de probabilidade; CV= Coeficiente de variação de todo o experimento, dado pelo teste de Scott & Knott, explicitando o coeficiente de variabilidade de tempo e dano separadamente.

O principal sítio de ação dos inseticidas organofosforados é o sistema nervoso na junção neuromuscular, interagindo com a acetilcolinesterase. A inibição da acetilcolinesterase deve-se a uma estimulação excessiva dos receptores da acetilcolina. Em um trabalho com populações resistentes de *R. dominica*, Guedes et al. (1997) demonstraram que a atividade aumentada da acetilcolinesterase pode estar relacionada com a resistência de organofosforados.

I SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE



O óleo de *P. aduncum*, por ser rico em dilapiol, produto pertencente ao grupo químico dos arilpropanóides, apresenta potencialmente a capacidade de interferência nas funções do citocromo P-450 dos insetos, podendo alterar o processo de destoxificação, responsável pela resistência dos insetos aos inseticidas, relatados por Nagabu & Lakshnmaiah (1994) e Janiadu et al. (1997).

Segundo Yu & Nguyen (1992), várias enzimas e sistemas enzimáticos estão envolvidos no metabolismo de desintoxicação, como esterases, oxidases, transferases, entre outras. Quanto as esterases, elas são de maior importância quando nos referimos aos organofosforados. Segundo Ahmad et al. (2007), foram encontradas evidências de que o Butóxido de Piperonila pode inibir também as esterases. Como BPO e o óleo essencial, ricos em dilapiol, possuem o grupo metilemodioxifenil em sua molécula, pode-se referir que o óleo essencial de *P. aduncum* pode possuir o potencial de inibir esterases. Essa característica pode ser evidenciada para os seguintes inseticidas: Parathion Metílico e Clorpirifós, onde foi possível reduzir em até 75% a dose comercial, promovendo a mortalidade dos indivíduos quando combinado com concentrações sub-letais do óleo essencial, quando os mesmos foram combinados com Butóxido de Piperonila apenas o Clorpirifós apresentou redução de 50%. No caso do inseticida a base de Profenofós, não houve uma eficácia sinérgica com o óleo de *P. aduncum*, porém foi possível a redução em 75% quando sinergizado com BPO.

CONCLUSÕES

Todos os valores de redução de tempo para mortalidade de *S. frugiperda* como os de redução de danos às plantas de milho, indicam que o óleo de *P. aduncum* pode reduzir em até ¼ da dose comercial dos inseticidas Parathion Metílico e Clorpirifós, apresentando-se como uma opção ao butóxido de Piperonila (BP).

REFERÊNCIAS

AHMAD, M.; SAYYED, A. H.; CRICKMORE, H.; SALEEM, M. A. **Genetick and mechanism of resistance to deltamethrin in a field population of Spodoptera litura (Lepdoptera: Noctuidae)**. Brighton: Pest M, ang Sci, 2007. 9p.

ALVES, C.; FIDELES, C.; TANAKA, L.; SOARES, R.; MODESTO, T.; **Acetilcolina – Síntese, Degradação e Ações**. Disponível em <<http://neuromed89.blogspot.com.br/?m=1>>. Acesso em 29 de maio de 2013.

BRINDLEY, W.A.; SELIM, A.A. Synergism and antagonism in the analysis of insecticides

I SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE



resistance. **Environmental Entomology**, v 13, p. 348-353, 1990.

CASIDA, J.E. Mixed-function oxidase involvement in the biochemistry of insecticide synergists. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.18, p. 753-772, 1970.

CARVALHO, R.P.L **Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e suscetibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo.** Piracicaba, 1970. 170p. Tese (Doutorado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

VIANA, P. A. Efeito de doses do inseticida clorpirifós para o controle da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (Lepidóptera: Noctuidae), na cultura do milho. In: EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **Relatório técnico anual 1992-1993.** Sete Lagoas, 1994. v.6,9,p.65.

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V. COSTA, C.R. da **Potencialidades da pimenta-de-macaco (*Piper aduncum* L.): características gerais e resultados de pesquisa.** Rio Branco: Embrapa- CPAF/AC, 2006. 53p. (Embrapa Acre. Documentos, 103).

FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; CATANI, V.; ALECIO, M. R.; LIMA, M. S. Propriedade inseticida dos óleos essenciais de *Piper hispidinervum* C.DC., *Piper aduncum* L. e *Tanaecium nocturnum* (Barb. Rodr.) Bur.& K. Shum sobre *Tenebrio molitor* L., 1758. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 31, n. 1, p. 113-120, jan/fev, 2007.

FAZOLIN, M., ESTRELA, J.L.V. Piperáceas da Amazônia com potencial de uso inseticida. In: SEMINÁRIO DE ENTOMOLOGIA E ACAROLOGIA AGRÍCOLA NA AMAZÔNIA, 1., 2011, Manaus. **Anais...** Manaus: UFAM, 2011. p.167-181.

JANIAUD, P.; DELAFORGE, M.; LEVI, P.; BONNARD, O.; MCRIZOT, J.P.; PADIEU, P. Epithelial-cells of adult liver in culture and hepatocarcinogenic metabolism of safrol and analogs. **Biologie Cellulaire**, v.30, n.1, p.14.

GEORGHIOU, G. P.; TAYLOR, C. E. **Operational influences in the evolution of insecticide resistance.** J. Econ. Entomol. 70:653-658. 1977.

GUEDES, R. N.; KAMBHAMPATI; B. A. DOVER & K. Y. Zhu. 1997a. **Biochemical mechanisms of organophosphate resistance in *Rhyzopertha dominica* (Coleoptera: Bostrichidae) populations from the United State and Brazil.** Bulletin of Entomological Research 87: 581-586.

NAGABU, E.; LAKSHMAIAH,N. Inhibition of microsomal lipid-proxidation an monooxygenase activities by eugenol. **Free Radical Research**, v.20, n.4, p- 253-266, 1994.

I SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA EMBRAPA ACRE



OLIVEIRA, F.E.B. **Susceptibilidade de *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) a metaflumizone na cultura do milho: bases para o manejo da resistência.** Piracicaba, 2008. 53p. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo.

OMOTO, C.; GUEDES, R. N. C. **Resistência de pragas a pesticidas: Princípios e práticas.** Mogi Mirim, IRAC. 1998. 24 p.

RAFFA, K.F.; PRIESTER, T.M. Synergists as research tools and control agents in agriculture, **Journal of Agricultural Entomology**, v.2, p. 27-45.

ROCHA, S.F.R.; MING, L.C. **Piper hispidinervum: asustainable source of safrole.** In: J. Janick (ed.), Perspectives on new crops and news uses. ASHS Press, Alexandria, p. 479-481, 1999.

Apoio: CNPq