

Rio Branco, AC / Janeiro, 2024

OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL



Formulação da fração terpênica do óleo de *Piper aduncum* L. como sinergista de inseticidas químicos

Murilo Fazolin⁽¹⁾, André Fabio Medeiros Monteiro⁽²⁾, Humberto Ribeiro Bizzo⁽³⁾, Natalia da Silva Maisforte⁽⁴⁾, Maria Érica Costa de Lima⁽⁵⁾ e Paola Ervatti Gama⁽⁶⁾

⁽¹⁾ Pesquisador, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽²⁾ Analista, Embrapa Acre, Rio Branco, AC. ⁽³⁾ Pesquisador, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ. ⁽⁴⁾ Bióloga, estudante de mestrado da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. ⁽⁵⁾ Engenheira-agrônoma, estudante de mestrado da Universidade Federal do Acre, Rio Branco, AC. ⁽⁶⁾ Analista, Embrapa Agroindústria de Alimentos, Rio de Janeiro, RJ.

Resumo – O uso de compostos sinérgicos em combinação com inseticidas químicos é uma estratégia para o manejo da resistência de insetos, mas há poucas opções de produtos comerciais com essa propriedade. O aproveitamento das frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L. (Oepa) é considerado ambientalmente sustentável pela redução de resíduos. Portanto, o desenvolvimento de formulações a partir dessas frações enriquecidas por adição de *blends* de compostos pode ser uma opção sinérgica para inseticidas químicos, sendo esse o objetivo deste trabalho. Utilizaram-se para a elaboração do *blend* 27 monoterpenoides, 3 sesquiterpenoides e 7 fenilpropanoides combinados com a fração nas proporções de 2,0, 10,0 e 25,0%. A toxicidade dos tratamentos foi diferenciada pela comparação dos fatores de sinergismo e coeficientes angulares das retas obtidas da regressão da resposta concentração-mortalidade. A fração enriquecida ou não com os diferentes compostos foi sinérgica para os inseticidas metomil e ciflutrina, e a adição do *blend* a 25,0% (V/V) favoreceu uma rápida resposta de mortalidade; pequeno efeito sinérgico foi observado para a combinação do inseticida dursban com a fração sem adição do *blend*; o inseticida ciflutrina, comparado aos demais, apresentou maior resposta sinérgica em todas as proporções na combinação com o *blend* de compostos avaliados.

Termos para indexação: fenilpropanoides, destilação fracionada, óleo essencial, resistência de insetos, terpenoides.

Formulation of the terpene fraction from *Piper aduncum* L. oil as a synergist for chemical insecticides

Abstract – This study explores the synergistic potential of combining fractions of *Piper aduncum* L. essential oil (Oepa) with compound blends to enhance chemical insecticides' efficacy. Limited options exist for synergistic compounds commercially, making this research significant. Oepa fractions obtained via rectification are environmentally friendly due to reduced waste. The study aimed to create formulations by blending Oepa fractions with

Embrapa Acre

Rodovia BR-364, km 14, sentido
Rio Branco/Porto Velho
Caixa Postal 321
69900-970 Rio Branco, AC
www.embrapa.br/acre
www.embrapa.br/fale-conosco/sac

Comitê Local de Publicações

Presidente
Elias Melo de Miranda
Secretária-executiva
Claudia Carvalho Sena

Membros

Carlos Mauricio Soares de
Andrade, Celso Luis Bergo,
Evandro Orfanó Figueiredo,
Rivaldo Coelho Gonçalves,
Rodrigo Souza Santos,
Romeu de Carvalho Andrade Neto,
Tadário Kamel de Oliveira,
Tatiana de Campos e
Virgínia de Souza Álvares

Edição executiva
e revisão de texto
Claudia Carvalho Sena e
Suely Moreira de Melo

Normalização bibliográfica
Renata do Carmo França Seabra
(CRB-11/1044)

Projeto gráfico
Leandro Sousa Fazio

Diagramação
Francisco Carlos da Rocha
Gomes

Publicação digital: PDF

Todos os direitos
reservados à Embrapa.

27 monoterpenoids, three sesquiterpenoids, and seven phenylpropanoids in ratios of 2.0, 10.0 and 25.0%. Toxicity evaluations included synergism factors and angular coefficients from concentration-mortality response regression. Results revealed Oepa fractions, enriched or not, enhanced insecticides methomyl and cyfluthrin synergistically, especially at 25.0% (V/V) concentration, causing swift mortality. Insecticide dursban exhibited slight synergy without the blend. Cyfluthrin consistently showed robust synergistic responses across proportions with the evaluated blend. Overall, the study underscores the potential of *Piper aduncum* L. essential oil fractions and compound blends as effective tools for boosting chemical insecticides, offering promising avenues for insect resistance management and pest control.

Index terms: essential oil, fractional distillation, insect resistance, phenylpropanoids, terpenoids.

Introdução

Atualmente, o desenvolvimento de um produto fitossanitário exige de 10 a 12 anos entre a descoberta de um composto químico e o início de sua produção em escala comercial. O custo desse desenvolvimento gira ao redor de US\$ 250 milhões (Confederação da Agricultura e Pecuária do Brasil, 2019).

Na obtenção da proteção patentária no Brasil são necessários, em média, 12 anos (Instituto Nacional de Propriedade Industrial, 2021), a partir do seu depósito. Durante a vigência da proteção, muitas vezes, o agroquímico perde parte de sua eficácia devido à evolução da resistência dos organismos-alvo (insetos e ácaros-praga) a esses produtos, diminuindo sua vida útil, interferindo assim diretamente, de forma negativa, na sua comercialização.

Embora não existam informações atualizadas, Oliveira (2017) relata que houve evolução da resistência para 56 ingredientes ativos comercializados no Brasil. Isso equivale a 22,0% dos 254 inseticidas e acaricidas categorizados pelo Comitê de Ação à Resistência a Inseticidas (Irac). Esses ingredientes pertencem a 22 grupos distintos e os que apresentaram maior número de casos de relatos de resistência foram: organofosforados (16), ciclodieno organoclorado (16) e piretroides e piretrinas (12).

O uso intensivo levou à rápida evolução da resistência de muitos insetos a várias classes de inseticidas. Como resultado, é contínua a busca por produtos novos e mais seguros (Akhtar; Isman, 2013).

Existem estratégias que podem ser adotadas para o manejo da resistência de insetos, dentre

elas, a utilização de sinérgicos em combinação com inseticidas. Produtos comerciais usados como sinérgicos de inseticidas são utilizados com menor frequência devido, principalmente, à indisponibilidade de opções de compostos com essa propriedade (Fazolin et al., 2016a).

O butóxido de piperonila é o sinérgico mais utilizado pela indústria de agroquímicos. Desde 1947, é sintetizado a partir da incorporação de um radical éter à molécula de safrol. Portanto, apresenta múltiplas possibilidades de formulações principalmente quando combinado com piretrinas, piretroides, rotenona e carbamatos na forma de pós, *sprays*, nebulizadores e líquidos (Knowles, 1991; Tozzi, 1998).

Os óleos essenciais (OEs) podem atuar como sinérgicos com inseticidas pela capacidade de inibição de enzimas metabólicas detoxificativas, relacionadas ao mecanismo bioquímico de resistência.

Os componentes majoritários dos OEs, geralmente, refletem suas características biofísicas e biológicas (Ipek et al., 2005), sendo a amplitude dos seus efeitos biológicos em um organismo-alvo dependente apenas das suas respectivas concentrações, quando esses componentes são avaliados de forma isolada ou como combinação com outros compostos presentes no óleo. Óleos essenciais são muitas vezes consideravelmente mais eficazes do que seus compostos puros isolados e há evidências de que constituintes menores podem atuar como sinérgicos, aumentando o efeito dos constituintes principais por meio de uma variedade de mecanismos (Akhtar; Isman, 2013).

Com base no conhecimento das interações entre compostos, formulações com misturas ou combinações de compostos ou óleos essenciais têm sido desenvolvidas para maximizar a eficácia de produtos inseticidas. A EcoSMART Technologies desenvolveu uma combinação de diferentes óleos essenciais que aumenta consideravelmente a bioatividade desses compostos contra insetos e produziu uma gama de pesticidas contendo diferentes misturas de óleos de alecrim, hortelã-pimenta, capim-limão, cravo, canela e/ou monoterpenos como ingredientes ativos (Isman; Tak, 2017).

Piper aduncum L. (Piperaceae) é uma espécie abundante no Acre e seu sistema de produção encontra-se em estágio avançado de aperfeiçoamento. Após a colheita das plantas, obtêm-se talos finos e folhas que, depois da secagem, são submetidos inicialmente à destilação por arraste de vapor e, na sequência, ao processo de destilação fracionada, de modo a obter o óleo essencial com uma composição constante e reprodutível e também para atingir um nível desejado de atividade dentro

de um intervalo de concentração em dilapiol entre 68 e 88% por contato residual (Fazolin et al., 2022).

Há evidências de que o óleo essencial rico em dilapiol, particularmente o de *P. aduncum* (Oepa), possui efeito sinérgico com inseticidas dos grupos químicos dos carbamatos, fosforados e piretroides, além de inseticidas naturais como Neem, Toosendanin, Tenulin, Rotenona, Piretrum e óleo de Tansy (Handa; Dewan, 1974; Lichtenstein et al., 1974; Mukerjee, 1979; Parmar; Tomar, 1983; Bernard et al., 1990; Bertrand, 1992; Bernard; Philogène, 1993; Larocque et al., 1999; Shankarganesh et al., 2009; Bhuiyan et al., 2010; Liu et al., 2014; Lima et al., 2015; Fazolin et al., 2015, 2016a, 2016b, 2016c, 2017).

Na aplicação do fracionamento do Oepa realizado pela Embrapa Acre têm sido obtidas, em média, três frações: uma rica em terpenoides, uma intermediária (terpenoides e fenilpropanoides) e uma fração final rica em dilapiol e outros fenilpropanoides.

Como atualmente o interesse do óleo produzido é a fração rica em dilapiol, consideram-se as duas outras com maiores teores de terpenoides como coprodutos. Portanto, o aproveitamento, ao invés do descarte dessas frações, é considerado sustentavelmente desejável em função da demanda da sociedade por uma economia circular, redução da geração de resíduos e sustentabilidade ambiental (Fontgalland, 2022).

Foi levada em consideração, como critério para a seleção dos compostos a serem utilizados no enriquecimento da fração terpênica do Oepa para avaliação sinérgica, a ocorrência em plantas do gênero *Piper* (Andrade et al., 2009; Kumari et al. 2014; Monzote et al., 2017; Salehi et al., 2019; Durofil et al., 2021). Adicionalmente, foi considerada a facilidade de obtenção e disponibilidade desses compostos no mercado (Fazolin et al., 2022), sendo eleitos como referência os óleos essenciais ricos em alfa-pineno, limoneno, 1,8-cineol, timol, metil eugenol, dilapiol, sarisan ou asaricina. Os demais compostos comumente encontrados e utilizados nas combinações sinérgicas como miristicina, pulegona, alfa-terpineno e terpinen-4-ol, embora também sejam produzidos em pequenas quantidades por piperáceas, não foram considerados, pois podem ser isolados em processos químicos específicos (Andrade et al., 2009).

O desenvolvimento de formulações com foco no manejo da resistência dos insetos, a partir de frações químicas do óleo essencial de *Piper aduncum* L. enriquecidas por adição de diferentes compostos, tem como finalidades o aumento da eficácia sinérgica para inseticidas químicos já testados

e o aproveitamento sustentável de frações de Oepa anteriormente consideradas como resíduo. Essa é uma alternativa adicional sustentável de oferta de novos compostos sinergistas na avaliação da resistência bioquímica de insetos, viabilizando a utilização de vários agroquímicos no controle de pragas de importância agropecuária em diferentes sistemas da cadeia produtiva do agronegócio brasileiro.

Além disso, a proposta de trabalho pretendeu ampliar a inserção de produtos da biodiversidade da Amazônia na melhoria da eficácia de inseticidas produzidos e comercializados pela indústria de agroquímicos, por meio do incremento da maturidade de ativos tecnológicos existentes, que apresentem potencial de geração de novos produtos comerciais dentro dessa cadeia de produção.

Esta publicação está de acordo com o Objetivo de Desenvolvimento Sustentável 2 (Fome Zero e Agricultura Sustentável). Os Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) são uma coleção de 17 metas globais estabelecidas pela Assembleia Geral das Nações Unidas e contam com o apoio da Embrapa para que sejam atingidas.

Material e métodos

Obtenção das frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L., identificação e quantificação dos constituintes

Toda a produção do óleo essencial e experimentação relatada neste trabalho foram conduzidas na Embrapa Acre, localizada na Rodovia BR-364, km 14, sentido Rio Branco-Porto Velho, no município de Rio Branco, Acre.

Plantas de *P. aduncum* foram coletadas em área de produção da Embrapa Acre, separando-se somente as folhas e talos finos para secagem. O óleo essencial foi obtido em um destilador, utilizando o princípio de arraste de vapor em um sistema de caldeira aquecida a diesel, adaptado de Pimentel e Silva (2003). O óleo essencial foi redistilado por meio do sistema de destilação fracionada, utilizando coluna empacotada (segredo industrial). O processo teve a duração de 4 horas, coletando-se três frações que foram caracterizadas quimicamente.

Os óleos e as frações retificadas foram analisados por cromatografia em fase gasosa em equipamento Agilent 7890A com detector de ionização de chama (CG-DIC) e coluna capilar HP5-MS (5,0%-fenil-95,0%-metilsilicone, 30,00 m x 0,25 mm x 0,25 µm). O detector foi operado a 280 °C e o injetor a 250 °C. As amostras foram dissolvidas a 0,1% em hexano e 1,00 µL foi injetado com divisão de

fluxo (1:20). A temperatura do forno variou de 60 a 240 °C, a uma taxa de 3 °C min⁻¹. O gás carreador usado foi o hidrogênio (1,50 mL min⁻¹). Para a quantificação, as áreas brutas obtidas no CG-DIC foram normalizadas utilizando-se um padrão interno (octanoato de metila) e corrigidas com os fatores de resposta teóricos em planilha Excel (Bizzo et al., 2020) expressos como área relativa percentual.

A identificação foi realizada em cromatógrafo Agilent 7890A acoplado a espectrômetro de massas Agilent 5775C (CG-EM), operado no modo ionização eletrônica (70 ev), taxa de varredura de 3,15 scan s⁻¹, na região de 35 a 350 u. As temperaturas da linha de transferência, fonte de ionização e analisador foram de 260, 200 e 150 °C, respectivamente. O hélio foi utilizado como gás carreador (1,00 mL min⁻¹). A coluna e demais condições de análises foram as mesmas utilizadas para a análise quantitativa. A caracterização química foi feita pela comparação dos espectros de massas obtidos no banco de dados do CG-EM e pelo cálculo dos índices de retenção linear (IRL), que foram comparados com dados da literatura (Adams, 2007). Para a determinação dos IRL, foi injetada uma mistura de alcanos lineares (C9 a C26) e calculados os índices segundo Van den Dool e Kratz (1963).

Dessa forma puderam ser definidas, tomando-se como referência os diferentes teores de dilapiol, as três frações: terpênica, intermediária e fenilpropanoica. Nessa fase experimental, foi considerada apenas a fração terpênica.

Adição de compostos às frações retificadas para a composição de *blends*

Após a caracterização química da fração terpênica do Oepa foi elaborado um *blend* completo pela combinação de 36 compostos presentes em grande parte nos óleos essenciais de Piperaceae, adquiridos na sua forma purificada na Sigma Aldrich Brasil com pureza superior a 98,0%.

Foram utilizados 7 fenilpropanoides: anetol, eugenol, miristicina, *p*-anisaldeído, (*E*)-cinamalaldeído, sarisan e dilapiol; 12 monoterpenos: (-)- β -pineno, (-)- α -pineno, (+)-limoneno, (+)-3-careno, mirceol, *o*-cimeno, *p*-cimeno, sabineno, terpinoleno, α -felandreno, α -terpineno, γ -terpineno; 15 monoterpenos oxigenados: (-)-terpinen-4-ol, *L*-carvona, (+)-carvona, citrônella, (-)-endo-borneol, carvacrol, neral, eucaliptol (1,8 cineol), geraniol, isoborneol, *L*-linalol, *L*-mentona, timol e α -terpineol; 1 sesquiterpeno: (β -cariofileno); e 2 sesquiterpenos oxigenados: nerolidol e óxido de cariofileno.

Inicialmente, apenas um *blend* completo foi produzido e armazenado (em geladeira doméstica a

6 °C), utilizando-se quantidade equivalente de cada composto (1:1) (Tak et al., 2017) em três proporções diferentes no enriquecimento da fração terpênica.

Foram utilizadas três proporções do *blend* completo de compostos na combinação com cada fração: 2,0% (V/V) (1,00 μ L de cada composto líquido e 1,00 μ g de cada composto sólido), 10,0% (V/V) (5,60 μ L de cada composto líquido e 5,60 μ g de cada composto sólido) e 25,0% (V/V) (13,90 μ L de cada composto líquido e 13,90 μ g de composto sólido) completados em vidro âmbar até que o volume final atingisse 2,00 mL. Esses frascos foram fechados com batoque e tampa rosqueada, permanecendo sob refrigeração até o momento de sua utilização. De forma resumida, a porcentagem de participação de cada grupo químico na composição da fração terpênica (F1) antes e após a adição dos diferentes percentuais do *blend* de compostos pode ser observada na Figura 1.

Dessa forma, foram submetidas à avaliação do efeito sinérgico essas proporções do *blend* completo em combinação com os inseticidas dursban (organofosforado), ciflutrina (piretroide sintético) e metomil (carbamato), todos adquiridos na forma purificada na Sigma Aldrich. Os tratamentos assim constituídos foram comparados entre si e pela combinação do butóxido de piperonila (PBO), tomado a dez vezes (Stewart, 1998), com a DL₄₀ de cada inseticida.

Avaliação toxicológica das combinações das frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L. com os inseticidas

Para cada inseticida e cada uma das combinações do *blend* completo foi adotada a metodologia a seguir:

Em todos os bioensaios foram utilizadas larvas de terceiro instar da espécie *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), obtidas por meio de uma criação artificial de insetos, conforme metodologia proposta por Schmidt et al. (2001).

Inicialmente, foram realizados testes preliminares com o propósito de determinar os padrões ideais para experimentação seguindo-se a metodologia descrita por Finney (1971).

Foram estabelecidas entre cinco e sete concentrações de cada tratamento de forma isolada, além de um controle (solvente acetona). Todas as concentrações foram usadas nos bioensaios definitivos de curva de concentração-mortalidade e determinação da dose com probabilidade de causar 50,0% de mortalidade (DL₅₀) para cada inseticida e/ou formulação a ser avaliada.

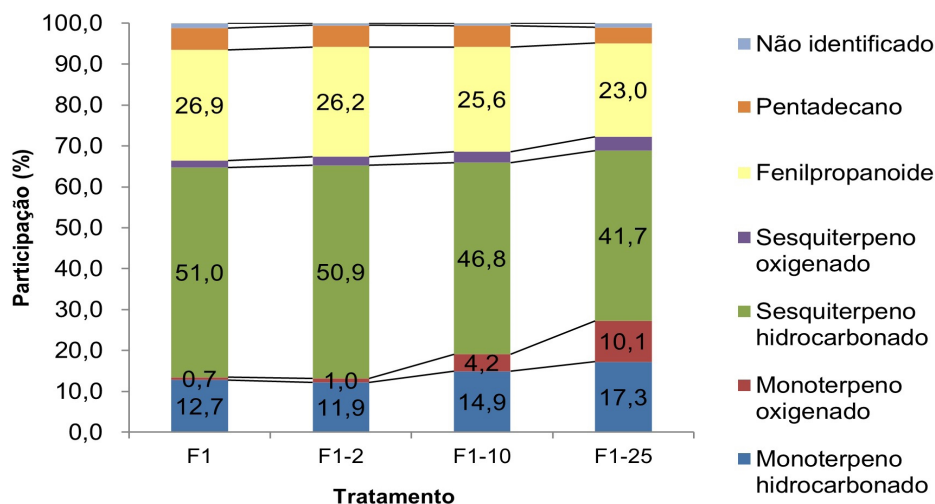


Figura 1. Porcentagem de participação de cada grupo químico utilizado na composição da fração terpênica (F1) sem enriquecimento e após a adição dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%) e F1-25 (enriquecida a 25,0%).

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições. Em todos os bioensaios definitivos, lagartas de *S. frugiperda*, no terceiro instar, foram confinadas isoladamente em placas de Petri (5,00 x 1,50 cm), mantidas em câmara climatizada à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de $70,0 \pm 5,0\%$ e fotofase de 12 horas, até o momento da avaliação da mortalidade dos indivíduos. O tempo de exposição dos insetos aos tratamentos foi de 24 horas considerando-se a mortalidade cumulativa no período.

Os bioensaios toxicológicos por contato tópico consistiram na aplicação, com auxílio de uma microsseringa graduada, de 1,00 µL de cada tratamento a ser avaliado no dorso do pronoto das larvas de *S. frugiperda* que já estavam individualizadas nas placas de Petri. As placas foram organizadas sequencialmente em bandejas de plástico transparente retangular, sendo armazenadas em câmara climatizada BOD com temperatura controlada de 25 ± 2 °C e fotofase de 12 horas.

Em todos os bioensaios os dados de mortalidade de concentração-resposta foram submetidos à análise de Probit, utilizando-se o programa de análises estatísticas SAS (SAS Institute, 2001) para determinar a DL_{50} de cada combinação testada. Os valores de mortalidade foram corrigidos pela mortalidade da testemunha utilizando-se a fórmula de Abbott (1925).

Avaliação do potencial sinérgico das combinações de compostos com as frações do óleo essencial de *Piper aduncum* L. em relação aos inseticidas

A partir dos resultados das análises de Probit, descritas anteriormente, foi tomada 1/2 das DL_{50} de cada fração combinada com as diferentes proporções dos *blends* para uma nova combinação com as DL_{40} de cada inseticida, visando manter o princípio da avaliação de sinergia, segundo Bernard e Philogène (1993).

A partir daí, novos valores da DL_{50} foram obtidos para as combinações utilizando-se a análise de Probit.

As eficácias sinérgicas das combinações avaliadas foram comparadas por meio do valor do fator de sinergismo (FS), baseado em Guedes et al. (1995), ($FS = DL_{50}$ i.a. inseticida/ DL_{50} do inseticida combinado com o sinérgico) revelando a potência relativa das combinações consideradas. Para a diferenciação dos tratamentos com relação ao efeito sinérgico, foi considerada como diferença significativa a ausência da sobreposição dos valores dos intervalos de confiança a 95,0% dos FSs das combinações avaliadas (Van Frankenhuyzen, 2009) e, conseqüentemente, a sobreposição desses valores indica a ausência de diferença significativa entre os tratamentos comparados.

Além disso, foram consideradas como sinérgicas as combinações cujo valor do FS tenha sido maior que 1. Por outro lado, valores de FS iguais a 1 e abaixo de 1 indicaram efeitos aditivos e antagônicos, respectivamente (Abbassy et al., 2009).

Outro parâmetro avaliado para todas as combinações foram os valores do coeficiente angular obtido na análise de Probit admitida como uma regressão linear. Tal coeficiente indica a rapidez da resposta de mortalidade quando o inseto-alvo é submetido a pequenas variações de doses das combinações (Carvalho et al., 2017), demonstrando o espectro da correlação de sensibilidade entre a mortalidade e a concentração do tratamento. Os maiores valores desse coeficiente na comparação dos tratamentos indicam que um menor intervalo de tempo é necessário para promover a mortalidade do

alvo e, consequentemente, os menores valores indicam que um maior intervalo de tempo é necessário para expressar a letalidade do xenobiótico (Araújo et al., 2012).

Resultados e discussão

Análise da fração terpênica do óleo essencial de *Piper aduncum* L.

As três frações destiladas foram denominadas tomando-se como referência os diferentes teores de dilapiol: fração terpênica (26,0% de dilapiol), fração intermediária (59,1% de dilapiol) e fração fenilpropaenoica (85,3% de dilapiol). Nessa fase experimental foi considerada apenas a fração terpênica, caracterizada na Tabela 1.

Tabela 1. Composição (área %) da fração terpênica do óleo essencial de *Piper aduncum* L.

Composto identificado	IRL _{calc} ⁽¹⁾	IRL _{lit} ⁽²⁾	Área (%)
α -pineno	931	932	1,8
canfeno	945	946	0,1
sabineno	970	969	n.q. ⁽³⁾
β -pineno	974	974	4,2
mirreno	989	988	0,2
α -felandreno	1.002	1.002	1,2
δ -3-careno	1.009	1.008	n.q.
α -terpineno	1.015	1.014	n.q.
<i>p</i> -cimeno	1.022	1.022	0,4
limoneno	1.025	1.024	1,1
1,8-cineol	1.029	1.026	n.q.
(<i>Z</i>)- β -ocimeno	1.034	1.032	0,6
(<i>E</i>)- β -ocimeno	1.044	1.044	2,7
γ -terpineno	1.054	1.054	n.q.
terpinoleno	1.085	1.086	0,3
linalol	1.099	1.095	0,4
neo-allo-ocimeno	1.137	1.140	0,2
mentona	1.150	1.148	n.q.
isoborneol	1.152	1.155	n.q.
borneol	1.161	1.165	n.q.
terpinen-4-ol	1.174	1.174	n.q.
α -terpineol	1.188	1.186	0,2

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Composto identificado	IRL _{calc} ⁽¹⁾	IRL _{lit} ⁽²⁾	Área (%)
carvona	1.240	1.239	n.q.
piperitona	1.250	1.249	n.q.
(E)-anetol	1.281	1.282	n.q.
acetato de bornila	1.281	1.284	0,1
safrol	1.285	1.285	0,6
n.i. ⁽⁴⁾	1.321	—	0,1
timol	1.291	1.289	n.q.
carvacrol	1.300	1.298	n.q.
δ-elemeno	1.330	1.335	1,0
α-cubebeno	1.343	1.348	1,1
n.i.	1.357	—	n.q.
ciclosativeno	1.359	1.369	0,8
α-ylangeno	1.364	1.373	0,2
α-copaeno	1.369	1.374	4,2
β-cubebeno	1.383	1.387	0,4
β-elemeno	1.385	1.389	1,0
α-gurjuneno	1.401	1.409	0,6
(E)-cariofileno	1.413	1.417	30,8
β-copaeno	1.421	1.430	0,8
γ-elemeno	1.426	1.434	0,3
aromadendreno	1.430	1.439	1,0
α-humuleno	1.445	1.452	3,5
β-santaleno	1.452	1.457	1,3
allo-aromadendreno	1.452	1.458	n.q.
trans-cadina-1(6),4-dieno	1.466	1.475	n.q.
n.i.	1.469	—	1,1
γ-muuroleno	1.470	1.478	n.q.
germacreno D	1.472	1.480	n.q.
γ-curcumeno	1.473	1.481	n.q.
β-selineno	1.477	1.489	0,3
trans-muurola-4(14),5-dieno	1.483	1.493	0,1
n.i.	1.487	—	n.q.
biciclogermacreno	1.488	1.494	n.q.
asaricina	1.491	1.495	n.q.
n-pentadecano	1.495	1.500	5,3
(E,E)-α-farneseno	1.503	1.505	0,1

Continua...

Tabela 1. Continuação.

Composto identificado	IRL _{calc} ⁽¹⁾	IRL _{lit} ⁽²⁾	Área (%)
β -bisaboleno	1.503	1.505	n.q.
δ -amorfeno	1.508	1.511	n.q.
cubebol	1.508	1.514	n.q.
miristicina	1.516	1.517	n.q.
δ -cadineno	1.516	1.522	2,8
(Z)-nerolidol	1.528	1.531	n.q.
<i>trans</i> -cadin-1,4-dieno	1.525	1.533	0,3
α -calacoreno	1.535	1.544	0,3
elemicina	1.555	1.555	0,3
germacreno B	1.547	1.559	n.q.
(E)-nerolidol	1.559	1.561	n.q.
espatulenol	1.569	1.577	0,3
óxido de cariofileno	1.574	1.582	1,0
viridiflorol	1.583	1.592	0,4
epóxido de humuleno II	1.600	1.608	n.q.
dilapiol	1.619	1.620	26,0
Total de componentes identificados			98,8
Total de monoterpenos			12,8
Total de monoterpenoides oxigenados			1,3
Total de sesquiterpenos			52,1
Total de sesquiterpenoides oxigenados			1,7
Outros			31,6

⁽¹⁾ Índice de retenção linear experimental (IRL_{calc}), calculado de acordo com Van Den Dool e Kratz (1963). ⁽²⁾ Índice de retenção linear da literatura (IRL_{lit}) (Joulain; Konig, 1998; Adams, 2007). ⁽³⁾ Não quantificado (n.q.) (<0,1%). ⁽⁴⁾ Não identificado (n.i.).

Traço (–): informação não aplicável.

Avaliação do efeito sinérgico da combinação do inseticida metomil com a fração terpênica (F1) do óleo essencial de *Piper aduncum* L. enriquecida com um *blend* de terpenoides e fenilpropanoides

Independentemente da combinação do inseticida metomil com a fração terpênica do Oepa, quer enriquecida com os diferentes compostos ou não, assim como com o butóxido de piperonila (PBO), foram observados efeitos sinérgicos significativos (FSs > 1) em todos os tratamentos. Tal tendência de resultado pode ainda ser observada, independentemente da porcentagem de participação do *blend* de compostos, na composição da combinação (Figura 2).

O maior valor de FS = 4,05 (IC = 4,74–3,60) observado para o metomil combinado com a fração sem enriquecimento não diferiu significativamente do valor de FS = 3,88 (IC = 3,97–3,54) obtido para a combinação desse inseticida com a fração enriquecida com 2,0% (V/V) do *blend* completo de compostos. A partir daí, os valores dos FSs foram decrescentes, na seguinte ordem de combinação do metomil, com fração enriquecida com 10,0% (V/V) do *blend* de compostos [FS = 3,06 (2,78–3,10)], PBO [FS = 1,94 (1,83–1,95)] e, finalmente, fração enriquecida com 25,0% (V/V) do *blend* completo de compostos [FS = 1,42 (1,32–1,44)].

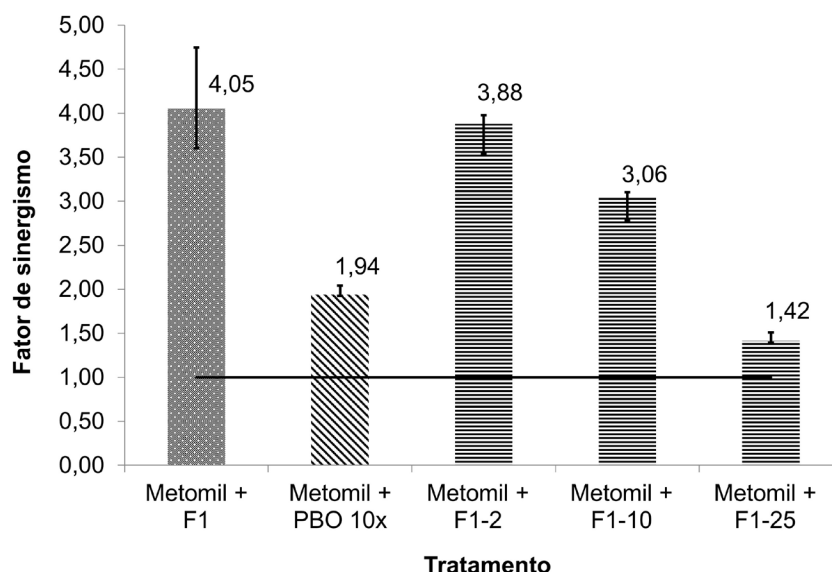


Figura 2. Fatores de sinergismo da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila - PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%) e F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida metomil para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

Dessa forma, pode-se constatar uma tendência ao decréscimo dos valores dos FSs inversamente proporcional ao aumento da proporção do *blend* na combinação.

Os carbamatos, como o metomil, possuem ação inseticida por inibir enzimas acetilcolinesterases (AChE), classe de esterases que regulam os níveis de acetilcolina, ao catalisar a hidrólise dessa acetilcolina nos terminais dos impulsos nervosos dos insetos. Carbamatos ligam-se ao sítio ativo dessa enzima e a inibem irreversivelmente, gerando um acúmulo de acetilcolina, resultando na morte do inseto (Aldridge, 1950).

Portanto, uma alteração do mecanismo de acetilcolinesterase produz um espectro amplo de resistência aos inseticidas do tipo carbamato (São Paulo, 2001). Alguns compostos presentes na composição da fração terpênica possuem a capacidade de inibir esterases e são relatados como sinergistas de inseticidas do tipo carbamato (Tong; Bloomquist, 2013). Assim, os monoterpênicos β -pineno, limoneno, α -terpineno, γ -terpineno, terpinen-4-ol, eucaliptol, linalol, timol, carvacrol e mentona, além do sesquiterpeno (*E*)-cariofileno, que estiveram presentes na composição da fração terpênica bem como na composição obtida após a adição do *blend* de compostos em diferentes porcentagens, podem, dessa forma, contribuir com a expressão do efeito sinérgico para o inseticida metomil.

Adicionalmente, os fenilpropanoides como miristicina, metil eugenol e dilapiol, mesmo não ultrapassando 27,0% da composição da fração e suas variações de combinação com o *blend*, podem ter um papel importante na expressão do efeito sinérgico, uma vez que inibem não somente esterases como também monooxigenases dependentes do citocromo P450 e glutatona S-transferase (Lichtenstein et al., 1974; Qin et al., 2010; Waliwitiya et al., 2012; Liu, 2015).

Esses valores do FS para o inseticida metomil combinado com a fração terpênica do Oepa, independentemente do enriquecimento com o *blend* de compostos, foram mais altos do que aqueles obtidos por Fazolin et al. (2017), quando avaliaram o efeito sinérgico do Oepa com 71,9% de dilapiol com esse inseticida pela via de contaminação tópica sobre larvas de *S. frugiperda* (variação do FS entre 0,93 e 1,1). No entanto, pela via de contaminação residual, os FSs obtidos por Fazolin et al. (2017) (variação entre 16,5 e 17,2) foram maiores que os observados no presente trabalho. Isso pode demonstrar a importância do dilapiol como sinérgico de inseticidas inibidores de AChE a depender da via de contaminação do inseto-alvo.

As esterases e as monooxigenases dependentes do citocromo P450 catalisam reações que envolvem o metabolismo xenobiótico e consequentemente a destoxificação de quase todas as classes

de inseticidas (Hemingway; Ranson, 2000), ficando a cargo das glutatona S-transferases as reações por conjugação (Hemingway, 2000), que devem ser consideradas na avaliação da mortalidade dos insetos quando ocorrem alterações em seus respectivos mecanismos de atuação, principalmente quando são inibidas.

Esse complexo de reações enzimáticas pode não responder de forma linear à adição de compostos considerados inibidores das enzimas envolvidas no processo. A significativa redução do efeito sinérgico da fração terpênica, na medida em que o *blend* foi adicionado de forma crescente, pode ser explicada pelo antagonismo que geralmente ocorre entre alguns compostos quando associados em determinadas proporções ao mirceno, α -pineno e β -pineno (Pavela, 2014, 2015), sendo possível a redução do efeito sinérgico pela inativação cumulativa desses compostos. Por se tratarem de monoterpenos hidrocarbonados, o aumento de seus teores na composição da fração, quando a ela foi adicionado o *blend* a 25,0% (V/V) (Figura 2), pode ter sido decisivo na queda dos valores do FS.

A complexidade dessas reações ao nível de fração do Oepa pode ainda ser amplificada quando estão envolvidos o α -pineno e β -pineno. Por se tratarem de compostos com ação bivalente, podem inibir em certas condições e ativar em outras o mesmo grupo de família de enzimas como as

monooxigenases P450 (Brattsten et al., 1977). Tais resultados podem exigir avaliações caso a caso na elaboração de formulações sinérgicas a partir de óleos essenciais ricos em α -pineno e β -pineno com outros compostos, com vistas a formulações inseticidas. Seria oportuna e melhor a relação entre a proporção desses compostos com os demais dentro da formulação, quando é definida na rota bioquímica da destoxificação a ocorrência da separação dos efeitos totalmente ambíguos para esse grupo enzimático durante a ação desses monoterpenos (Fazolin et al., 2023).

Ao mesmo tempo em que ocorreu um decréscimo na potencialização do metomil pela fração terpênica enriquecida com o *blend* de compostos a 25,0% (V/V), foi observado um valor significativamente alto do coeficiente angular [1,86 (1,73–1,99)] que não diferiu do valor do coeficiente angular da combinação desse inseticida com o PBO 1,81 (1,66–1,96) (Figura 3). Tal resultado indica que esses tratamentos apresentam uma resposta de mortalidade mais rápida diante de pequenas variações das concentrações das combinações comparadas (Carvalho et al., 2017). Isso implica em uma maior correlação de sensibilidade entre a mortalidade e a concentração da amostra e, conseqüentemente, em um menor intervalo de tempo necessário para a promoção da mortalidade do inseto-alvo (Araújo et al., 2012).

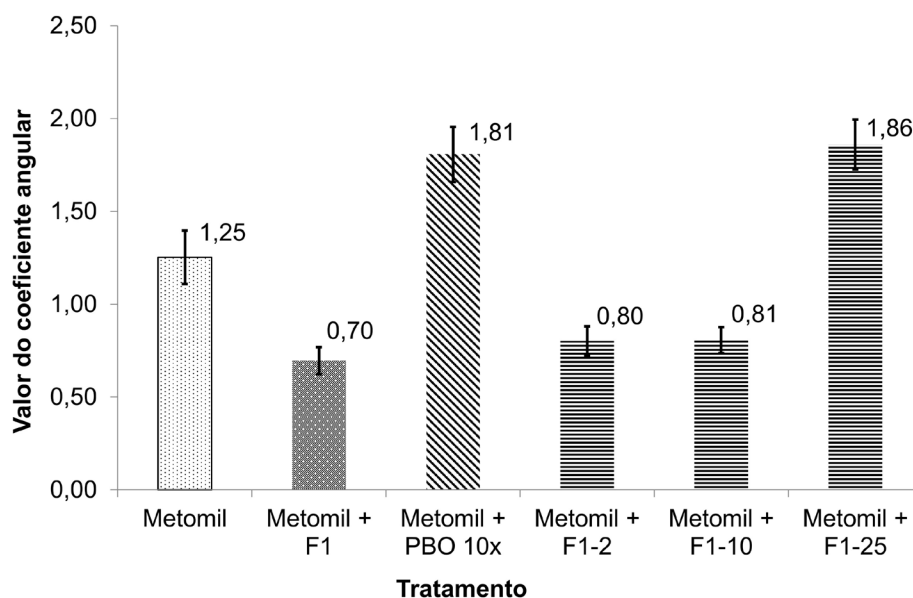


Figura 3. Coeficientes angulares das retas obtidas pela regressão linear de dose-resposta da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila – PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%) e F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida metomil para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

Valor considerado intermediário do coeficiente angular 1,25 (1,11–1,40) foi observado para o inseticida tomado de forma isolada.

As combinações do metomil com a fração terpênica sem enriquecimento, fração enriquecida a 2,0 e 10,0% (V/V), consideradas como sinérgicas, apresentaram baixa velocidade de resposta à intoxicação do alvo, com valores do coeficiente angular de 0,70 (0,62–0,77), 0,80 (0,72–0,88) e 0,81 (0,74–0,88), respectivamente.

Tomando-se como referência as particularidades de cada combinação e considerando-se os resultados extremos, um alto valor de potencialização do inseticida metomil, indicado pelo elevado valor do fator de sinergismo, quando combinado à fração terpênica sem enriquecimento, pode apresentar o inconveniente de uma lenta resposta de mortalidade em função do baixo valor do coeficiente angular. Por outro lado, uma baixa potencialização, embora sinérgica, observada na combinação desse inseticida com a fração enriquecida adicionada a 25,0% (V/V), pode apresentar uma rápida resposta de mortalidade em função do alto valor do seu coeficiente angular.

Avaliação do efeito sinérgico da combinação do inseticida dursban com a fração terpênica (F1) do óleo essencial de *Piper aduncum* L. enriquecida com um *blend* de terpenoides e fenilpropanoides

A única combinação do inseticida dursban que apresentou efeito sinérgico significativo ($FS > 1$) foi com a fração terpênica sem qualquer enriquecimento.

A combinação do inseticida dursban com a fração terpênica do Oepa enriquecida com os terpenoides e fenilpropanoides em que as porcentagens de participação no *blend* de compostos foi de 10,0 e 25,0% (V/V), assim como a combinação desse inseticida com o butóxido de piperonila (PBO) apresentaram efeitos antagônicos significativos ($FSs < 1$). A fração enriquecida com 2,0% (V/V) do *blend* de compostos foi considerada pelos critérios de classificação como aditiva por apresentar uma pequena variação (ao redor de 1), observando-se o intervalo de confiança (Figura 4).

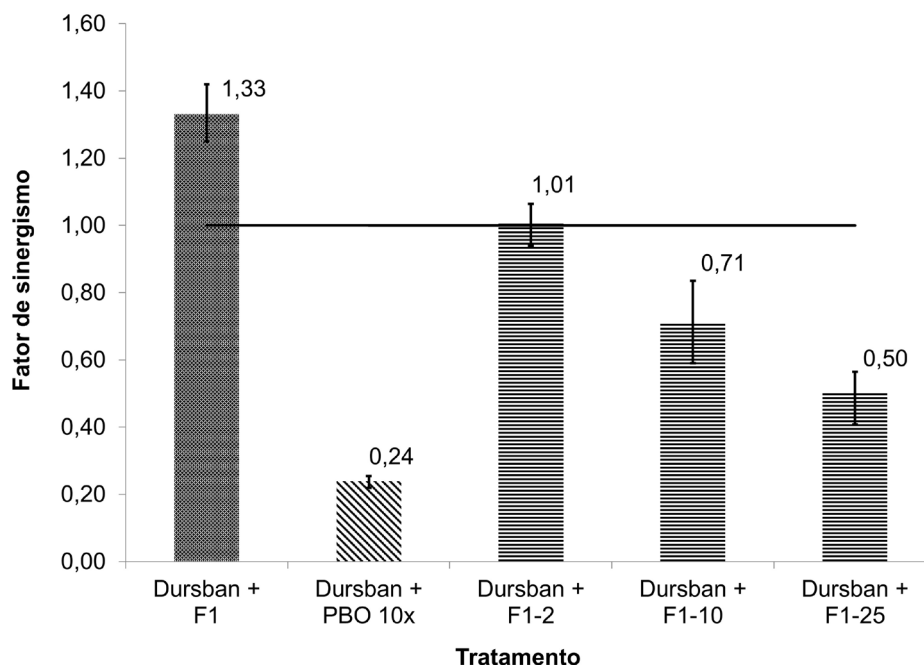


Figura 4. Fatores de sinergismo da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila – PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%) e F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida dursban para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

O maior valor de FS = 1,33 (1,25–1,42) observado para o dursban, combinado com a fração sem enriquecimento, diferiu significativamente dos valores de fatores de sinergismo obtidos para todas as demais combinações desse inseticida com os *blends* de compostos, incluindo-se sua combinação com o PBO. Observou-se que os valores dos FSs diferiram significativamente entre si e foram decrescentes na seguinte ordem de combinação do dursban: fração enriquecida com 2,0% (V/V) do *blend* de compostos [FS = 1,01 (0,94–1,06)], fração enriquecida com 10,0% do *blend* de compostos [FS = 0,71 (0,59–0,83)], com 25,0% (V/V) do *blend* de compostos [FS = 0,50 (0,41–0,57)] e, finalmente, a combinação com o PBO [FS = 0,24 (0,22–0,25)].

Fazolin et al. (2017) determinaram, em larvas de *S. frugiperda* por via de contato tópico, FSs para diferentes inseticidas organofosforados combinados com Oepa com teor de dilapiol de 71,9%. Os valores do FS variaram para profenofós de 0,008 a 5,4; fenitrotona de 6,3 a 33,8; e clorpirifós de 0,18 a 2,5. Com exceção do clorpirifós, maiores proporções do *blend* na combinação propiciaram menores efeitos sinérgicos, indicando que a proporção do sinergista na combinação é outro fator de importância relevante. Esses resultados sugerem que as respostas para ação sinérgica ou antagônica podem ainda depender do tipo de inseticida fosforado considerado.

Essa influência da proporcionalidade, tanto em combinações com princípios ativos de inseticidas químicos ou por *blends* de compostos sinergistas, necessita do estabelecimento de proporcionalidades entre o agente a ser sinergizado e o sinergista propriamente dito (Fazolin et al., 2022). Para tanto, a construção de isobogramas específicos na formulação desses agentes de controle é de fundamental importância. A descrição da ação conjunta de dois produtos/compostos por meio desse método permite que os princípios e alterações ligados à análise das associações possam ser claramente evidenciados (Kruse et al., 2006).

Na continuidade das observações para o inseticida dursban, constatou-se uma tendência ao decréscimo dos valores dos FSs inversamente proporcional ao aumento da concentração do *blend* combinado com o inseticida. Isso resulta em um aumento do antagonismo da combinação da fração enriquecida com o inseticida. O aumento do antagonismo culminou com a combinação do inseticida com o PBO que apresentou significativamente o menor valor do FS quando comparado aos demais tratamentos.

Os inseticidas fosforados como o dursban, após contato e/ou ingestão, agem como inibidores das

enzimas acetilcolinesterases, responsáveis por hidrolisar o neurotransmissor acetilcolina. A enzima é fosforilada pelo inseticida, ficando inativa. Ocorre o acúmulo de acetilcolina na fenda sináptica, que provoca uma hiperatividade nervosa e consequente colapso do sistema nervoso. Além disso, também ocorre a dessensibilização do receptor de acetilcolina que cessa o impulso nervoso, levando o inseto à morte (Eldefrawi, 1976; Eldefrawi et al., 1982; São Paulo, 2001).

Portanto, uma alteração do mecanismo de acetilcolinesterase produz um espectro amplo de resistência aos inseticidas organofosforados, à semelhança dos inseticidas tipo carbamato (São Paulo, 2001). Dessa forma, os mesmos compostos presentes na composição da fração terpênica possuem a capacidade de inibir esterases e são relatados como sinergistas de inseticidas organofosforados (Lichtenstein et al., 1974; De-Oliveira et al., 1997; Abbassy et al., 2009; Abdelgaleil et al., 2009; López; Pascual-Villalobos, 2010).

Deve ser ressaltado, no entanto, que a fosforilação da AChE envolve um conjunto complexo de reações que inclui outras enzimas. Dessa forma, dependendo do local específico em que ocorre a fosforilação e das características da quinase (enzimas responsáveis por adicionar grupo fosfato a resíduos de aminoácidos específicos em proteínas-alvo) envolvida, a fosforilação da AChE pode levar a diferentes resultados. Por exemplo, a fosforilação em determinadas posições pode resultar na inibição da atividade da AChE, enquanto em outras posições pode ter efeitos opostos (Jokanović, 2001).

No entanto, é importante observar que a fosforilação da acetilcolinesterase não é o principal mecanismo de regulação da AChE (Giglioli et al., 2011) e sim a carbamilação, conforme discutido anteriormente. A fosforilação pode desempenhar um papel secundário na regulação da AChE, mas seu papel exato e os efeitos resultantes dependem do seu local específico e das quinases envolvidas (Jokanović, 2001).

Isso pode explicar a diferença de resposta entre o inseticida do tipo carbamato, metomil, em relação ao fosforado dursban, quando da adição de compostos hipoteticamente sinérgicos que estão presentes na fração terpênica e respectivas adições em diferentes proporções do *blend*.

Como mencionado anteriormente, monoterpenos com β -pineno, limoneno, α -terpineno, γ -terpineno, terpinen-4-ol, eucaliptol, linalol, timol, carvacrol e mentona, além do sesquiterpeno (*E*)-cariofileno, são reconhecidamente inibidores de esterases (Tong; Bloomquist, 2013) e estiveram

presentes na composição da fração terpênica, bem como na composição obtida após a adição do *blend* de compostos em diferentes porcentagens. Dessa forma, podem contribuir na expressão do efeito sinérgico para o inseticida carbamato diferentemente do inseticida fosforado. O mesmo pode ser inferido para o efeito dos fenilpropanoides como miristicina, metil-eugenol e o dilapiol, mesmo não ultrapassando 27,0% da composição da fração e suas variações de combinação com o *blend*. Os fenilpropanoides podem ter um papel importante na expressão do efeito sinérgico, uma vez que inibem não somente esterases como também monooxigenases dependentes do citocromo P450 e glutathione S-transferase (Lichtenstein et al., 1974; Qin et al., 2010; Waliwitiya et al., 2012; Liu, 2015), porém hipoteticamente poderiam atuar de forma diferenciada em relação à inibição das esterases, além das quinases envolvidas no processo.

Como mencionado anteriormente, esse complexo de reações enzimáticas pode não responder de forma linear à adição de compostos considerados inibidores das enzimas envolvidas no processo.

A significativa redução do efeito sinérgico da fração terpênica, na medida em que o *blend* foi

adicionado de forma crescente, pode ser explicada pelo antagonismo que geralmente ocorre entre alguns compostos quando associados em determinadas proporções ao mircenol, α -pineno e ao β -pineno (Pavela, 2014, 2015), o que pode reduzir o efeito sinérgico pela inativação cumulativa desses compostos. É importante observar que, por se tratarem de monoterpenos, o aumento de seus teores na composição da fração quando da adição do *blend* a 25,0% (V/V) (Figura 1) pode ter sido determinante na queda dos valores do FS. Além disso, deve ser considerada a diferença entre a fosforilação e carbamilação na regulação da AChE em que esses compostos podem atuar de diferentes formas para a expressão do sinergismo ou antagonismo das combinações.

Na comparação com os coeficientes angulares das combinações sinérgicas do *blend* de compostos com o inseticida dursban, o maior valor 1,38 (1,29–1,47) foi observado para o inseticida sem nenhuma adição de compostos, diferindo significativamente dos demais valores dos coeficientes angulares dos outros tratamentos avaliados (Figura 5).

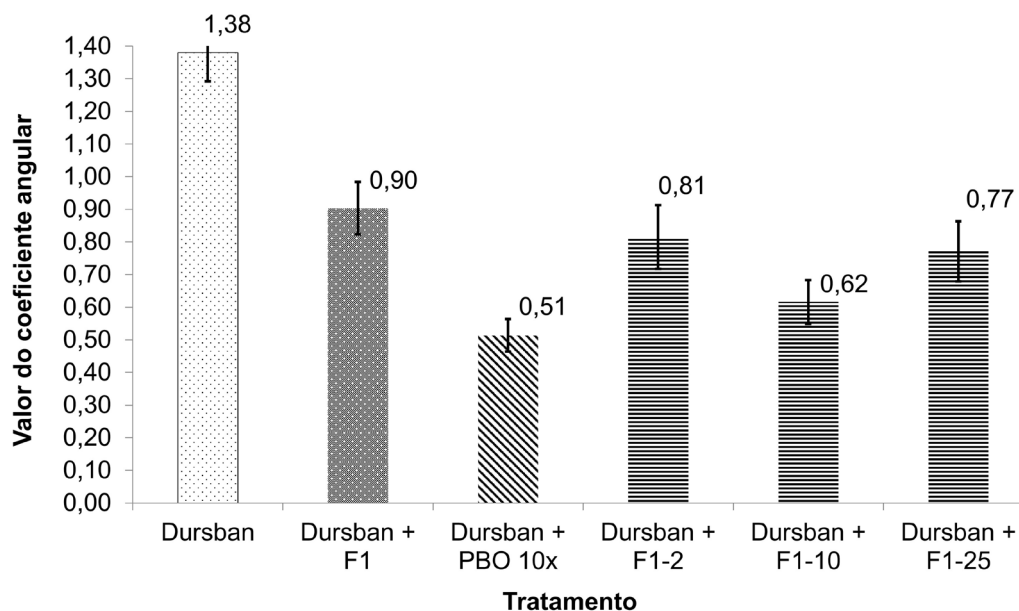


Figura 5. Coeficientes angulares das retas obtidas pela regressão linear de dose-resposta da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila – PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%), F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida dursban para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

Não diferiram significativamente entre si os valores dos coeficientes angulares do inseticida dursban que recebeu a adição das frações: a) sem enriquecimento 0,90 (0,82–0,98); b) enriquecidas e adicionadas a 2,0% (V/V) ao inseticida 0,81 (0,70–0,91); e c) adição a 25,0% (V/V) 0,77 (0,68–0,86). Na sequência, o coeficiente angular da combinação do dursban com a fração enriquecida a 10,0% (V/V) foi de 0,62 (0,55–0,68) e com o PBO 0,51 (0,46–0,56), sendo os menores valores observados, além de terem diferido significativamente entre si.

Tal resultado indica que, com exceção da combinação da fração sem enriquecimento com o inseticida dursban, os demais tratamentos, além de apresentarem antagonismo ao inseticida, não aceleram a resposta de mortalidade diante de pequenas variações das concentrações das combinações comparadas (Carvalho et al., 2017). Isso implica em uma menor correlação de sensibilidade entre a mortalidade e a concentração da amostra e, consequentemente, um maior intervalo de tempo necessário para a promoção da mortalidade do inseto-alvo (Araújo et al., 2012).

Já o inseticida dursban, combinado com a fração sem enriquecimento, apresentou um valor de coeficiente angular que junto ao modesto efeito sinérgico pode ser considerado uma alternativa dessa combinação na formulação como inseticida.

Avaliação do efeito sinérgico da combinação do inseticida ciflutrina com a fração terpênica (F1) do óleo essencial de *Piper aduncum* L. enriquecida com *blend* de terpenoides e fenilpropanoides

Independentemente da combinação do inseticida ciflutrina com a fração terpênica do Oepa, quer enriquecida com os diferentes compostos ou não, assim como com o butóxido de piperonila (PBO), foram observados efeitos sinérgicos significativos ($FS > 1$) em todos os tratamentos. Tal resultado pode ainda ser observado, independentemente da porcentagem de participação do *blend* de compostos, na composição da combinação (Figura 6). O maior valor de $FS = 71,43$ ($IC = 65,93–75,93$) observado para a ciflutrina combinada com a fração sem enriquecimento diferiu significativamente de todos os demais tratamentos avaliados.

O valor de $FS = 17,61$ ($IC = 13,99–20,87$) obtido para a combinação desse inseticida com a fração enriquecida com 2,0% (V/V) do *blend* completo de compostos não diferiu significativamente dos valores de FS s, que foram crescentes na seguinte ordem de combinação da ciflutrina: com fração

enriquecida com 10,0% (V/V) do *blend* de compostos [$FS = 21,52$ (19,26–23,85)] e com 25,0% (V/V) do *blend* completo de compostos [$FS = 23,06$ (20,94–25,20)]. A combinação do PBO com esse inseticida apresentou um valor de $FS = 4,64$ (4,48–4,70) que diferiu significativamente dos tratamentos considerados anteriormente.

Tais valores de FS s foram maiores que os obtidos por Fazolin et al. (2016b) ao avaliarem o efeito sinérgico do Oepa para diferentes inseticidas do grupo químico piretroides sintéticos, quando a cipermetrina apresentou a maior resposta sinérgica [$FS = 5,97$ (5,52–7,14)]. Para todos os piretroides avaliados, os valores de FS s decresceram à medida que menores proporções do sinérgico foram utilizadas na combinação, demonstrando a necessidade de maiores concentrações de compostos, incluindo o dilapiol, na manifestação da sinergia.

Os piretroides foram desenvolvidos a partir do piretrum, que é uma mistura de substâncias obtidas da maceração da flor do crisântemo (*Chrysanthemum* spp.). Após o estabelecimento das rotas para a sua síntese, surgiu esse grupo de inseticidas classificados como ésteres do ácido crisântêmico (Santos et al., 2008; Zambolim et al., 2008) que atuam interagindo com os canais de sódio distribuídos ao longo dos axônios, prolongando ou impedindo o fechamento normal deles após a transmissão do impulso nervoso. Dessa forma, permitem o fluxo excessivo de íons de sódio para o interior da célula nervosa, ocasionando a hiperexcitabilidade e morte do inseto (Zambolim et al., 2008).

Embora na degradação dos piretroides estejam envolvidas as três classes de enzimas detoxificativas monooxigenases P-450, glutathione S-transferase (GST) e esterases (ESTs), há relatos de que a atuação de esterases específicas pertencentes a uma grande superfamília de α/β proteínas hidrolases seja importante para a resistência de piretroides (Oakeshott et al., 2005; Ai et al., 2010), sendo essa classe de enzimas considerada de menor importância para a degradação de piretroides (Kadous et al., 1983). Essas enzimas sequestram os inseticidas mais rapidamente do que os metabolizam, impedindo, desse modo, que cheguem ao local de ação. São importantes para a evolução da resistência a inseticidas organofosforados e carbamatos e, em menor escala, aos piretroides (Kadous et al., 1983).

Resultados cinéticos obtidos por meio de espectrofotometria indicaram que os inseticidas piretroides aletrina, deltametrina, fenpropatrina e cipermetrina

afetam a GST, reduzindo a sua atividade catalítica, principalmente o composto deltametrina, que apresentou maior potencial inibitório. Embora os inseticidas aplicados neste estudo pertençam à mesma classe, mostraram mecanismo de inibição diferentes dependendo do composto (Ribeiro et al., 2022).

A associação da resistência de noctuídeos como *S. frugiperda* aos inseticidas piretroides com o aumento da desintoxicação pelas monooxigenases dependentes do citocromo P-450 é relatada em diferentes regiões do mundo (Pittendrigh et al., 1997; Grubor; Heckel, 2007; Joußen et al., 2012; Han et al., 2015).

Compostos com reconhecida ação sinérgica para piretroides estão presentes na composição do *blend*, tais como, fenilpropanoides: eugenol (Norris et al., 2018), miristicina (Joffe et al., 2012), cinamaldeído (O'Neal et al., 2019; Yuan et al., 2019) e dilapiol (Joffe, 2011; Fazolin et al., 2015; 2016a, 2016b, 2016c, 2017); monoterpenos: limoneno (Joffe et al.,

2012; Melo, 2017), 3-careno (Suwannayod et al., 2019) e α -terpineno (Melo, 2017); monoterpenoides oxigenados: terpinen-4-ol (Melo, 2017), carvacrol (Norris et al., 2015, 2018, 2019; Gross et al., 2017), neral (Gross et al., 2017; Norris et al., 2015), 1,8-cineol (Melo, 2017) e linalol (Suwannayod et al., 2019), além do sesquiterpeno β -cariofileno (Suwannayod et al., 2019). Esses compostos relacionados apresentam capacidade de inibição de pelo menos uma das três principais classes de enzimas detoxificativas.

As mesmas considerações sobre a necessidade de construção de isobologramas, feitas anteriormente para os inseticidas organofosforados, também são válidas para esse grupo químico.

Pode-se constatar, no presente estudo, uma tendência ao acréscimo dos valores de FSs proporcional ao aumento da concentração do *blend* na combinação, embora com ausência de significância entre os tratamentos.

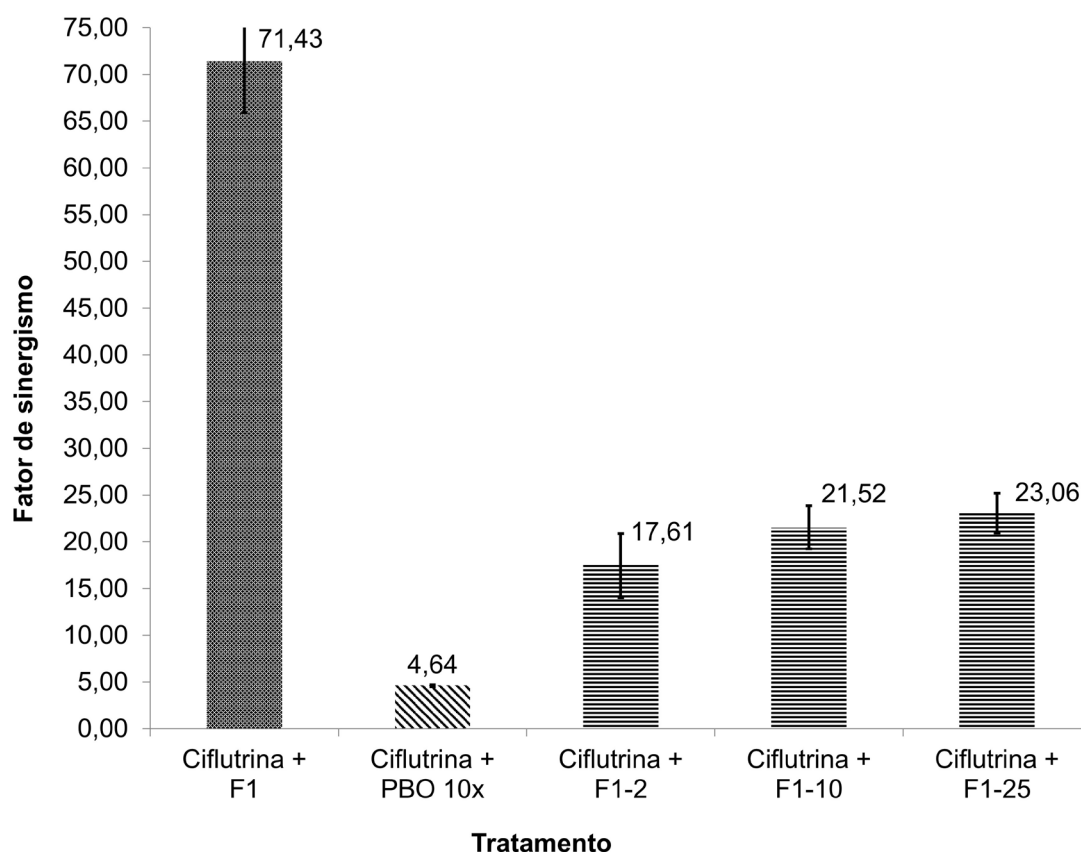


Figura 6. Fatores de sinergismo da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila – PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%), F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida ciflutrina para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

Isso pode sugerir a ocorrência de sinergismo nos compostos do *blend* entre si e/ou com os compostos da fração terpênica, como por exemplo, limoneno, 1,8-cineol, etc. (este último interfere positivamente na penetração de compostos na cutícula do inseto). No entanto, a quantidade de compostos sinérgicos inibidores de P-450 na fração deve ter sido suficiente para promover o sinergismo com a ciflutrina dentro dessa magnitude.

Embora tenha sido menor que os demais tratamentos, o efeito sinérgico do PBO deve ser considerado por ter potencializado o piretroide em quatro

vezes aproximadamente. É fato que esse valor foi menor que quaisquer combinações da ciflutrina com a fração terpênica, independente do enriquecimento (Figura 6).

Na comparação dos coeficientes angulares das combinações sinérgicas do *blend* de compostos com o inseticida ciflutrina, o maior valor [1,98 (1,74–2,22)] foi observado para a combinação desse inseticida sem a adição de quaisquer combinações da fração terpênica, independentemente do enriquecimento e suas variações percentuais no *blend* (Figura 7).

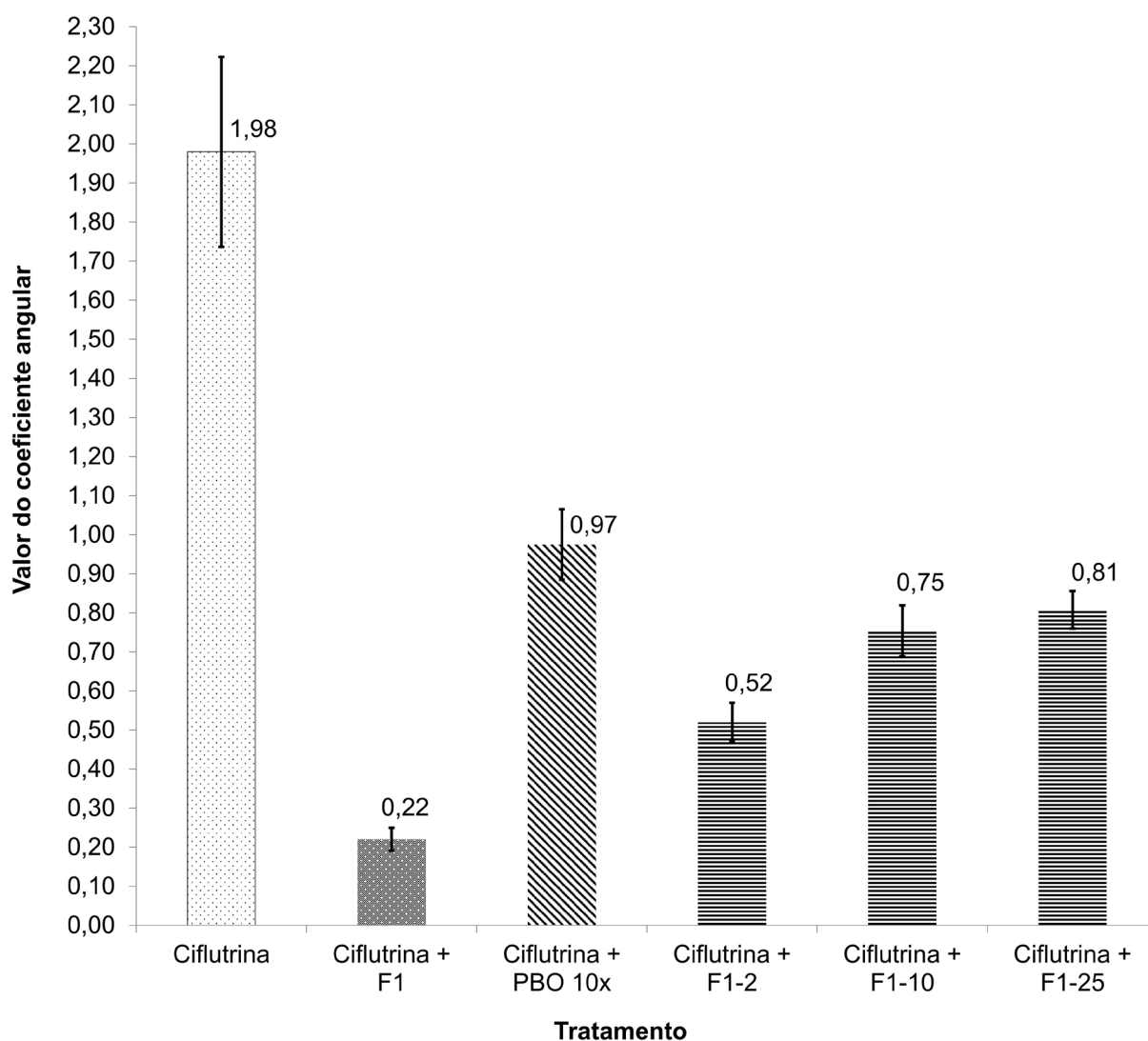


Figura 7. Coeficientes angulares das retas obtidas pela regressão linear de dose-resposta da fração terpênica (F1) sem enriquecimento, com adição de butóxido de piperonila – PBO (10 vezes) e após a combinação dos diferentes percentuais do *blend* de compostos: F1-2 (enriquecida a 2,0%), F1-10 (enriquecida a 10,0%), F1-25 (enriquecida a 25,0%), combinados com o inseticida ciflutrina para o controle de larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797).

O valor do coeficiente angular da fração enriquecida com o *blend* de compostos adicionado a 10,0% (V/V) [0,75 (0,69–0,82)] não diferiu significativamente do valor do coeficiente angular da combinação desse inseticida com a fração adicionada a 25,0% (V/V) [0,81 (0,76–0,86)]. Ambas as combinações diferiram significativamente da combinação da ciflutrina com o *blend* de compostos adicionado a 2,0% (V/V) [0,52 (0,45–0,82)].

De uma maneira geral, pode-se considerar uma tendência de acréscimo no valor do coeficiente angular em função do aumento da concentração do *blend* de compostos na combinação com a ciflutrina, mesmo não havendo significância na diferença entre os valores da menor porcentagem de adição com as duas maiores porcentagens na combinação com a ciflutrina.

Quanto à combinação desse inseticida com o PBO, o valor do coeficiente angular foi de 0,97 (0,88–1,06), significativamente maior que todas as combinações da ciflutrina com o *blend* de compostos, independentemente da porcentagem de adição.

A combinação da ciflutrina com a fração sem adição de compostos foi a que apresentou menor valor do coeficiente angular [0,22 (0,25–0,19)], diferindo significativamente de todos os demais tratamentos.

No entanto, considerando o alto valor do fator de sinergismo quando esse inseticida é combinado à fração terpênica sem adição de compostos, a menor velocidade de expressão da letalidade, devido ao baixo valor do coeficiente angular, pode ser compensada pela potencialização do inseticida e mereceria um ponderamento na tomada de decisão quanto à elaboração de uma formulação.

Caso a opção seja um efeito sobre a mortalidade em um menor intervalo de tempo, acréscimos percentuais da fração enriquecida com o *blend* de compostos deverão ser adicionados ao inseticida, aumentando tanto os valores dos coeficientes angulares como os fatores de sinergismo, considerados ainda elevados por corresponderem à potencialização da ciflutrina em um intervalo entre 17,61 e 23,05 vezes em relação ao inseticida sem a adição de compostos. Nesse caso, fica evidenciada uma maior correlação de sensibilidade entre a mortalidade e a concentração dessas combinações e, consequentemente, um menor intervalo de tempo seria necessário para promover a mortalidade do inseto-alvo (Araújo et al., 2012).

Conclusões

- 1) A fração terpênica do Oepa, enriquecida ou não com os diferentes compostos, apresentou efeito sinérgico para o inseticida metomil.
- 2) O maior valor do fator de sinergismo foi observado para o metomil combinado com a fração sem enriquecimento.
- 3) Há um decréscimo dos valores dos fatores de sinergismo com o aumento da concentração percentual do *blend* de compostos na combinação com o inseticida metomil.
- 4) Uma baixa potencialização, embora sinérgica, da combinação do metomil com a fração enriquecida com o *blend* adicionado a 25,0% (V/V) apresenta uma rápida resposta de mortalidade para larvas de *S. frugiperda*.
- 5) A fração terpênica sem qualquer enriquecimento combinada ao inseticida dursban foi a única a apresentar efeito sinérgico e menor tempo para a promoção da mortalidade de larvas de *S. frugiperda*.
- 6) A fração terpênica combinada com 2,0% (V/V) do *blend* de compostos apresentou efeito aditivo para a toxicidade do inseticida dursban.
- 7) A fração terpênica combinada com 10,0 e 25,0% (V/V) do *blend* de compostos apresentou efeito antagônico para a toxicidade do inseticida dursban.
- 8) Há um decréscimo dos valores dos fatores de sinergismo com o aumento da concentração percentual do *blend* de compostos na combinação com o inseticida dursban.
- 9) A fração terpênica do Oepa, enriquecida ou não com os diferentes compostos, apresentou efeito sinérgico para o inseticida ciflutrina.
- 10) O maior valor do fator de sinergismo foi observado para a ciflutrina combinada com a fração sem enriquecimento que necessita, no entanto, de um tempo maior para a promoção da mortalidade de larvas de *S. frugiperda*.
- 11) A fração terpênica, combinada com o *blend* de compostos e adicionada a 25,0% (V/V) ao inseticida ciflutrina, foi a que apresentou um equilíbrio entre o efeito sinérgico e a necessidade de menor tempo para a expressão da letalidade desse inseticida a larvas de *S. frugiperda*.
- 12) Há um acréscimo dos valores dos fatores de sinergismo com o aumento da concentração percentual do *blend* de compostos na combinação com o inseticida ciflutrina.

- 13) O inseticida ciflutrina, comparado ao metomil e dursban, foi o que apresentou maiores valores de resposta sinérgica pela adição da fração terpenica em todas as proporções com os *blends* de compostos avaliados.

Referências

- ABBASSY, M. A.; ABDELGALEIL, S. A.; RABIE, R. Y. Insecticidal and synergistic effects of *Majorana hortensis* essential oil and some of its major constituents. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 131, n. 3, p. 225-232, June 2009. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2009.00854.x>.
- ABBOTT, W. S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, n. 2, p. 265-267, Apr. 1925. DOI: <https://doi.org/10.1093/jee/18.2.265a>.
- ABDELGALEIL, S. A.; MOHAMED, M. I.; BADAWY, M. E.; EL-ARAMI, S. A. Fumigant and contact toxicities of monoterpenes to *Sitophilus oryzae* (L.) and *Tribolium castaneum* (Herbst) and their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity. **Journal of Chemical Ecology**, v. 35, p. 518-525, May 2009. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10886-009-9635-3>.
- ADAMS, R. P. **Identification of essential oil components by gas chromatography / mass spectrometry**. Illinois: Allured Publishing Corporation, 2007. 804 p.
- AI, G.; ZOU, D.; SHI, X.; LI, F.; LIANG, P.; SONG, D.; GAO, X. HPLC Assay for characterizing α -Cyano-3-phenoxybenzyl pyrethroids hydrolytic metabolism by *Helicoverpa armigera* (Hübner) based on the quantitative analysis of 3-phenoxybenzoic acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 58, n. 2, p. 694-70, Jan. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf9030376>.
- AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Plant natural products for pest management: the magic of mixtures. In: ISHAAYA, I.; PALLI, S. R.; HOROWITZ, A. R. (ed.). **Advanced technologies for managing insect pests**. Dordrecht: Springer, 2013. p. 231-247. DOI: https://doi.org/10.1007/978-94-007-4497-4_11.
- ALDRIDGE, W. N. Some properties of specific cholinesterase with particular reference to the mechanism of inhibition by diethyl 1 p-nitrophenyl 1 thiophosphate (E 605) and analogues. **Biochemical Journal**, v. 46, n. 4, p. 451, Apr. 1950. DOI: <https://doi.org/10.1042/bj0460451>.
- ANDRADE, E. D. A.; GUIMARÃES, E. F.; MAIA, J. G. S. **Variabilidade química em óleos essenciais de espécies de *Piper* da Amazônia**. Belém, PA: FEQ: UFPA, 2009. 448 p.
- ARAÚJO, M. J.; CÂMARA, C. A.; BORN, F. S.; MORAES, M. M.; BADJI, C. A. Acaricidal activity and repellency of essential oil from *Piper aduncum* and its components against *Tetranychus urticae*. **Experimental and Applied Acarology**, v. 57, p. 139-155, June 2012. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10493-012-9545-x>.
- BERNARD, C. B.; ARNASON, J. T.; PHILOGÈNE, B. J. R.; LAM, J.; WADDEL, T. In vivo effect of mixtures of allelochemicals in the life cycle of the European corn borer, *Ostrinia nubilalis*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 57, n. 1, p. 17-22, Oct. 1990. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.1990.tb01411.x>.
- BERNARD, C. B.; PHILOGÈNE, B. J. R. Insecticide synergists: role, importance, and perspectives. **Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A**, v. 38, n. 2, p. 199-223, 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 nubilalis***. 1992. 129 f. Thèse (Maitrise) – Université d'Ottawa, Ottawa.
- BHUIYAN, M. N. I.; BEGUM, J.; AKTER, F. Constituents of the essential oil from leaves and buds of clove (*Syzygium caryophyllatum* (L.) Alston). **African Journal of Plant Science**, v. 4, n. 11, p. 451-454, Nov. 2010. DOI: <https://doi.org/10.5897/AJPS.9000051>.
- BIZZO, H. R.; BARBOZA, E. G.; SANTOS, M.; GAMA, P. E. Um conjunto de planilhas eletrônicas para identificação e quantificação de constituintes de óleos essenciais. **Química Nova**, v. 43, n. 1, p. 98-105, jan. 2020. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170458>.
- BRATTSTEN, L. B.; WILKINSON, C. F.; EISNER, T. Herbivore-plant interactions: mixed-function oxidases and secondary plant substances. **Science**, v. 196, n. 4296, p. 1349-1352, June 1977. DOI: <https://doi.org/10.1126/science.196.4296.1349>.
- CARVALHO, J. R.; PRATISSOLI, D.; VIANNA, U. R.; HOLTZ, A. M. **Análise de probit aplicada a bioensaios com insetos**. Colatina: IFES, 2017. 102 p.
- CONFEDERAÇÃO DA AGRICULTURA E PECUÁRIA DO BRASIL. **Do laboratório à lavoura: como são os testes e o controle de agroquímicos**. 2019. Disponível em: <https://cnabrazil.org.br/noticias/do-laboratorio-a-lavoura-como-sao-os-testes-e-o-controle-de-agroquimicos>. Acesso em: 29 de out. 2021.
- DE-OLIVEIRA, A. C.; RIBEIRO-PINTO, L. F.; PAUMGARTTEN, F. J. In vitro inhibition of CYP2B1 monooxygenase by β -myrcene and other monoterpenoid compounds. **Toxicology Letters**, v. 92, n. 1, p. 39-46, June 1997. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(97\)00034-9](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(97)00034-9).

- DUROFIL, A.; RADICE, M.; BLANCO-SALAS, J.; RUIZ-TÉLLEZ, T. *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic: a review. **Parasite**, v. 28, e42, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1051/parasite/2021040>.
- ELDEFRAWI, A. T. The Acetylcholine receptor and its interaction with insecticide. In: WILKINSON, C. F. (ed.). **Insect biochemistry physiology**. New York: Plenum Press, 1976. p. 297-326. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4899-2212-0_8.
- ELDEFRAWI, A. T.; MANSOUR, N.; ELDEFRAWI, M. E. Insecticides affecting acetylcholine receptor interactions. **Pharmacy Theory**, v. 16, n. 1, p. 45-65, 1982. DOI: [https://doi.org/10.1016/0163-7258\(82\)90031-6](https://doi.org/10.1016/0163-7258(82)90031-6).
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; GOMES, L. P.; DA SILVA, I. M.; DE FARIAS SILVA, M. S. 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. Disponível em: <https://btcc.ufra.edu.br/index.php/ajaes/article/view/2389>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; GOMES, L. P.; SILVA, I. M. da; 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: <https://doi.org/10.18512/1980-6477/rbms.v14n3p316-325>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; MEDEIROS, A. F. M.; SILVA, I. M. da; GOMES, L. P.; SILVA, M. S de F. Synergistic potential of dillapiol-rich essential oil with synthetic pyrethroid insecticides against fall armyworm. **Ciência Rural**, v. 46, n. 3, p. 382-388, Mar. 2016b. DOI: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20141500>.
- FAZOLIN, M.; ESTRELA, J. L. V.; 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, 2016a. DOI: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2016v37n6p3903>.
- 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@mbiente**, v. 11, n. 3, p. 232-240, 2017. DOI: <https://doi.org/10.18227/1982-8470ragro.v11i3.3995>.
- FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; BIZZO, H. R.; GAMA, P. E.; VIANA, L. de O.; LIMA, M. E. C. de. Insecticidal activity of *Piper aduncum* oil: variation in dillapiol content and chemical and toxicological stability during storage. **Acta Amazonica**, v. 52, n. 3, p. 179-188, jul./set. 2022. DOI: <https://doi.org/10.1590/1809-4392202102292>.
- FAZOLIN, M.; MONTEIRO, A. F. M.; MALAVAZI, F. W.; ESTRELA, J. L. V. Óleos essenciais como sinergistas de formulações inseticidas. In: RIBEIRO, L. do P.; VENDRAMIM, J. D.; BALDIN, E. L. L. (ed.). **Inseticidas botânicos no Brasil: aplicações, potencialidades e perspectivas**. Piracicaba, SP: Fealq, 2023. p. 557-615.
- FINNEY, D. J. **Probit analysis**. New York: Cambridge University Press, 1971. 338 p.
- FONTGALLAND, I. L. **Economia circular e consumo sustentável**. Campina Grande: Ampila, 2022. 86 p.
- GIGLIOLLI, A. A. S.; LUCENA, A. L. M.; LAPENTA, A. S. Identificação e caracterização das esterases em *Tribolium castaneum* COLEOPTERA: TENEBRIONIDAE. **SaBios: Revista de Saúde e Biologia**, v. 6, n. 1, p. 25-35, jan./abr. 2011. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/769>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- GROSS, A. D.; NORRIS, E. J.; KIMBER, M. J.; BARTHOLOMAY, L. C.; COATS, J. R. Essential oils enhance the toxicity of permethrin against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 31, n. 1, p. 55-62, Mar. 2017. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12197>.
- GRUBOR, V. D.; HECKEL, D. G. Evaluation of the role of CYP6B cytochrome P450s in pyrethroid resistant australian *Helicoverpa armigera*. **Insect Molecular Biology**, v. 16, n. 1, p. 15-23, Feb. 2007. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2583.2006.00697.x>.
- 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, n. 3, p. 313-318, mar. 1995. Disponível em: <https://seer.sct.embrapa.br/index.php/pab/article/view/4309>. Acesso em: 2 abr. 2022.
- HAN, Y.; YU, W.; ZHANG, W.; YANG, Y.; WALSH, T.; OAKESHOTT, J. G.; WU, Y. Variation in P450-mediated fenvalerate resistance levels is not correlated with CYP337B3 genotype in Chinese populations of *Helicoverpa armigera*. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 121, p. 129-135, June 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2014.12.004>.
- HANDA S. K.; DEWAN, R. S. Evaluation of dillapiol and dihydrodillapiol as synergists for pyrethrins in dust formulations. **Pyrethrum Post**, v. 13, p. 45-46, 1974.
- HEMINGWAY, J. The molecular basis of two contrasting metabolic mechanisms of insecticide resistance. **Insect Biochemistry and Molecular Biology**, v. 30, n. 11,

p. 1009-1015, Nov. 2000. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0965-1748\(00\)00079-5](https://doi.org/10.1016/S0965-1748(00)00079-5).

HEMINGWAY, J.; RANSON, H. Insecticide resistance in insect vectors of human disease. **Annual Review of Entomology**, v. 45, p. 371-391, 2000. DOI: <https://doi.org/10.1146/annurev.ento.45.1.371>.

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL. **Patentes**. 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/inpi/pt-br/servicos/patentes>. Acesso em: 30 nov. 2021.

IPEK, E.; ZEYINOGLU, H.; OKAY, S.; TUYLU, B. A.; KURKCUOGLU, M.; BASER, K. H. C. Genotoxicity and antigenotoxicity of *Origanum* oil and carvacrol evaluated by Ames salmonella/microsomal test. **Food Chemistry**, v. 93, n. 3, p. 551-556, Dec. 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.034>.

ISMAN, M. B.; TAK, J. **Commercialization of insecticides based on plant essential oils: Past, present, and future**. Boca Raton: CRC Press, 2017. p. 27-40.

JOFFE, T. **Evaluation of potential pyrethrum sinergists on agriculturally significant insect species**. 2011. 262 f. Thesis (Doctorate in Philosophy) – School of Agricultural Science/TIAR, University of Tasmania, Hobart, Australia. Disponível em: https://figshare.utas.edu.au/articles/thesis/Evaluation_of_potential_pyrethrum_synergists_on_agriculturally_significant_insect_species/23207444. Acesso em: 2 abr. 2022.

JOFFE, T.; GUNNING, R. V.; ALLEN, G. R.; KRISTENSEN, M.; ALPTEKIN, S.; FIELD, L. M.; MOORES, G. D. Investigating the potential of selected natural compounds to increase the potency of pyrethrum against houseflies *Musca domestica* (Diptera: Muscidae). **Pest Management Science**, v. 68, n. 2, p. 178-184, Feb. 2012. DOI: <https://doi.org/10.1002/ps.2241>.

JOKANOVIĆ, M. Biotransformation of organophosphorus compounds. **Toxicology**, v. 166, n. 3, p. 139-160, Sept. 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(01\)00463-2](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(01)00463-2).

JOULAIN, D.; KÖNIG, W. A. **The atlas of spectral data of sesquiterpene hydrocarbons**. Hamburg: E. B. Verlag, 1998. 661 p.

JOUSSEN, N.; AGNOLET, S.; LORENZ, S.; SCHONE, S. E.; ELLINGER, R.; SCHNEIDER, B.; HECKEL, D. G. Resistance of Australian *Helicoverpa armigera* to fenvalerate is due to the chimeric P450 enzyme CYP337B3. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 109, n. 38, p. 15206-15211, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1073/pnas.1202047109>.

KADOUS, A. A.; GHASUDDIN, S. M.; MATSUMURA, F.; SCOTT, J. G.; TANAKA, K. Difference in the picrotoxinin receptor between the cyclodiene-resistant and

susceptible strains of the german cockroach. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 19, n. 2, p. 157-166, Apr. 1983. DOI: [https://doi.org/10.1016/0048-3575\(83\)90135-9](https://doi.org/10.1016/0048-3575(83)90135-9).

KNOWLES, C. O. Miscellaneous pesticides. In: HAYES, W. J.; LWAS, E. R. (ed.). **Handbook of pesticide toxicology**. San Diego, CA: Academic, 1991. v. 3, p. 1471-1526.

KRUSE, N. D.; VIDAL, R. A.; TREZZI, M. M. Curvas de resposta e isoblograma como forma de descrever a associação de herbicidas inibidores do fotossistema II e da síntese de carotenóides. **Planta Daninha**, v. 24, n. 3, p. 579-587, Sept. 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-83582006000300022>.

KUMARI, S.; PUNDHIR, S.; PRIYA, P.; JEENA, G.; PUNETHA, A.; CHAWLA, K.; YADAV, G. EssOilDB: a database of essential oils reflecting terpene composition and variability in the plant kingdom. **Database**, v. 2014, bau120, Dec. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1093/database/bau120>.

LAROCQUE, N.; VINCENT, C.; BELANGER, A.; BOURASSA J. P. Effects of tansy essential oil from *Tanacetum vulgare* on biology of oblique-banded leafroller, *Choristoneura rosaceana*. **Journal of Chemical Ecology**, v. 25, n. 6, 1999. DOI: <https://doi.org/10.1023/A:1020974725437>.

LICHTENSTEIN, E. P.; LIANG, T. T.; SCHULZ, K. R.; SCHNOES, H. K.; CARTER, G. T. Insecticidal and synergistic components isolated from dill plants. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 22, n. 4, p. 23-28, July 1974. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf60194a037>.

LIMA, V. S.; PINTO, A. C.; RAFAEL, M. S. Effect of isodillapiol on the expression of the insecticide resistance genes GSTE7 and CYP6N12 in *Aedes aegypti* from Central Amazonia. **Genetics and Molecular Research**, v. 14, n. 4, p. 16728-16735, Dec. 2015. DOI: <https://doi.org/10.4238/2015.december.11.20>.

LIU, S. Q. **The Activity of analogs of the natural product dillapiol and sessamol as detoxification enzyme inhibitors and insecticide synergists**. 2015. 183 f. Thesis (Doctorate in Philosophy degree in Biology) – Faculty of Graduate and Postdoctoral Studies, Faculty of Science, University of Ottawa, Ottawa, Canada. Disponível em: https://dam-oclc.bac-lac.gc.ca/download?is_thesis=1&oclc_number=1293866321&id=564fc1c8-e83b-4126-9451-d42750060c61&fileName=Liu_Su_Qi_2015_Thesis.pdf. Acesso em: 2 abr. 2022.

LIU, S. Q.; SCOTT, I. M.; PELLETIER, Y.; KRAMP, K.; DURST, T.; SIMS, S. R.; ARNASON, J. T. Dillapiol: a pyrethrum synergist for control of the Colorado potato beetle. **Journal of Economic Entomology**, v. 107, n. 2, p. 797-805, Apr. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1603/ec13440>.

LÓPEZ, M. D.; PASCUAL-VILLALOBOS, M. J. Mode of inhibition of acetylcholinesterase by monoterpenoids and implications for pest control. **Industrial Crops and Products**, v. 31, n. 2, p. 284-288, Mar. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2009.11.005>.

MELO, J. P. R. **Produtos formulados à base de óleos essenciais para o manejo de populações de traça-das-crucíferas *Plutella xylostella* (L.) (Lepidoptera: Plutellidae) resistentes ao ingrediente ativo delta-metrina**. 2017. 121 f. Tese (Doutorado em Agronomia) - Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife. Disponível em: <http://www.tede2.ufrpe.br:8080/tede2/handle/tede2/7751>. Acesso em: 2 abr. 2022.

MONZOTE, L.; SCULL, R.; COS, P.; SETZER, W. N. Essential oil from *Piper aduncum*: chemical analysis, antimicrobial assessment, and literature review. **Medicines**, v. 4, n. 3, 49, Sept. 2017. DOI: <https://doi.org/10.3390/medicines4030049>.

MUKERJEE, P. Solubilization in aqueous micellar systems. In: MITTAL, K. L. (ed.). **Solution chemistry of surfactants**. Boston, MA: Springer, 1979. p. 153-174. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4615-7880-2_6.

NORRIS, E. J.; GROSS, A. D.; BARTHOLOMAY, L. C.; COATS, J. R. Plant essential oils synergize various pyrethroid insecticides and antagonize malathion in *Aedes aegypti*. **Medical and Veterinary Entomology**, v. 33, n. 4, p. 453-466, Dec. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/mve.12380>.

NORRIS, E. J.; GROSS, A. D.; DUNPHY, B. M.; BESSETTE, S.; BARTHOLOMAY, L.; COATS, J. R. Comparison of the insecticidal characteristics of commercially available plant essential oils against *Aedes aegypti* and *Anopheles gambiae* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 52, n. 5, p. 993-1002, Sept. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1093/jme/tjv090>.

NORRIS, E.; JOHNSON, J.; GROSS, A.; BARTHOLOMAY, L.; COATS, J. Plant essential oils enhance diverse pyrethroids against multiple strains of mosquitoes and inhibit detoxification enzyme processes. **Insects**, v. 9, n. 4, e132, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/insects9040132>.

OAKESHOTT, J. G.; CLAUDIANOS, C.; CAMPBELL, P. M.; NEWCOMB, R. D.; RUSSELL, R. J. Biochemical genetics and genomics of insect esterases. In: GILBERT, L. I. (ed.). **Comprehensive molecular insect science**. Amsterdam: Elsevier, 2005. p. 309-381.

OLIVEIRA, I. M. de. **Resistência de artrópodos de importância agrícola ao controle químico**. 2017. 78 f. Dissertação (Mestrado Profissional em Defesa Sanitária Vegetal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

O'NEAL, S. T.; JOHNSON, E. J.; RAULT, L. C.; ANDERSON, T. D. Vapor delivery of plant essential oils alters pyrethroid efficacy and detoxification enzyme activity in mosquitoes. **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 157, p. 88-98, June 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2019.03.007>.

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.

PAVELA, R. Acute toxicity and synergistic and antagonistic effects of the aromatic compounds of some essential oils against *Culex quinquefasciatus* Say larvae. **Parasitology Research**, v. 114, p. 3835-3853, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00436-015-4614-9>.

PAVELA, R. Acute, synergistic and antagonistic effects of some aromatic compounds on the *Spodoptera littoralis* Boisd. (Lep., Noctuidae) larvae. **Industrial Crops and Products**, v. 60, p. 247-258, Sept. 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2014.06.030>.

PIMENTEL, F. A.; SILVA, M. R. da. **Recomendações sobre processo de destilação comercial de biomassa triturada de pimenta longa (*Piper hispidinervum*)**. Rio Branco, AC: Embrapa Acre 2003. 3 p. (Embrapa Acre. Comunicado técnico, 123). Disponível em: <http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/492672>. Acesso em: 2 abr. 2022.

PITTENDRIGH, B.; REENAN, R.; FFRENCH-CONSTANT, R. H.; GANETZKY, B. Pont mutations in the *Drosophila sodium* channel gene para associated with resistance to DDT and pyrethroid insecticides. **Molecular and General Genetics**, v. 256, p. 602-610, 1997. DOI: <https://doi.org/10.1007/s004380050608>.

QIN, W.; HUANG, S.; LI, C.; CHEN, S.; PENG, Z. Biological activity of the essential oil from the leaves of *Piper sarmentosum* Roxb. (Piperaceae) and its chemical constituents on *Brontispa longissima* (Gestro) (Coleoptera: Hispididae). **Pesticide Biochemistry and Physiology**, v. 96, n. 3, p. 132-139, Mar. 2010. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2009.10.006>.

RIBEIRO, E. B.; BADEA, M.; RIBEIRO, D. B.; COSTA, A. R.; SANTOS, D. R. D.; MARQUES, P. R.; NUNES, G. S. Atividade inibitória de pesticidas piretroides sobre a glutatona S-transferase. **Química Nova**, v. 45, n. 2, p. 138-144, 2022. DOI: <https://doi.org/10.21577/0100-4042.20170804>.

SALEHI, B.; ZAKARIA, Z. A.; GYAWALI, R.; IBRAHIM, S. A.; RAJKOVIC, J.; SHINWARI, Z. K.; SETZER, W. N. Piper species: a comprehensive review on their phytochemistry, biological activities and applications. **Molecules**, v. 24, n. 7, 1364, Apr. 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules24071364>.

SANTOS, M. D.; AREAS, M. A.; REYES, F. G. R. Piretróides—uma visão geral. **Alimentos e Nutrição Araraquara**, v. 18, n. 3, p. 339-349, jul./set. 2008.

SÃO PAULO (Estado). Secretaria de Estado da Saúde. Superintendência de Controle de Endemias. **Segurança em controle químico de vetores**. 2001. Disponível em: <https://www.saude.sp.gov.br/ses/institucional/autarquias/superintendencia-de-controle-de-endemias-sucen>. Acesso em: 18 dez. 2022.

SAS Institute. **User's guide**: statistics, version 8.2. 6. ed. Cary, NC, 2001.

SHANKARGANESH, K.; SUBAHMANYAM, B.; WALIAAND S.; DHINGRA, S. Dillapiole mediated esterase inhibition in insecticide resistant *Spodoptera litura* (Fabricius). **Pesticide Research Journal**, v. 21, n. 2, p. 143-147, Dec. 2009. Disponível em: <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:prj&volume=21&issue=2&article=006>. Acesso em: 2 abr. 2022.

SHMIDT, F. V.; MONNERAT, R. G.; BORGES, M.; CARVALHO, R. S. da. **Metodologia de criação para avaliação de agentes entomopatogênicos**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2001. 32 p. (Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. Circular técnica, 11).

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.

SUWANNAYOD, S.; SUKONTASON, K. L.; PITASAWAT, B.; JUNKUM, A.; LIMSOPATHAM, K.; JONES, M. K.; THAVARA, U. Synergistic toxicity of plant essential oils combined with pyrethroid insecticides against blow flies and the house fly. **Insects**, v. 10, n. 6, e178, June 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390%2Finsects10060178>.

TAK, J. H.; JOVEL, E.; ISMAN, M. B. Synergistic interactions among the major constituents of lemongrass essential oil against larvae and an ovarian cell line of the cabbage looper, *Trichoplusia ni*. **Journal of Pest Science**, v.90, p. 735-744, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10340-016-0827-7>.

TONG, F.; BLOOMQUIST, J. R. Plant essential oils affect the toxicities of carbaryl and permethrin against *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 50, n. 4, p. 826-832, July 2013. DOI: <https://doi.org/10.1603/ME13002>.

TOZZI, A. A Brief history of the development of piperonyl butoxide as an insecticide synergist. In: JONES, D. G. (ed.). **Piperonyl butoxide**: the insecticide synergist. San Diego, CA: Academic, 1998. p. 1-5.

VAN DEN DOOL, H.; KRATZ, P. D. A generalization of the retention index system including linear temperature programmed gas-liquid partition chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 11, p. 463-471. 1963. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0021-9673\(01\)80947-X](https://doi.org/10.1016/S0021-9673(01)80947-X).

VAN FRANKENHUYZEN, K. Insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* crystal proteins. **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 101, n. 1, p. 1-16, Apr. 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2009.02.009>.

WALIWITIYA, R.; NICHOLSON, R. A.; KENNEDY, C. J.; LOWENBERGER, C. A. The synergistic effects of insecticidal essential oils and piperonyl butoxide on biotransformational enzyme activities in *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). **Journal of Medical Entomology**, v. 49, n. 3, p. 614-623, May 2012. DOI: <https://doi.org/10.1603/ME10272>.

YUAN, L.; YANG, X.; YU, X.; WU, Y.; JIANG, D. Resistance to insecticides and synergistic and antagonistic effects of essential oils on dimethrin toxicity in a field population of *Culex quinquefasciatus* Say. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 169, p. 928-936, Mar. 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2018.11.115>.

ZAMBOLIM, L.; CONCEIÇÃO M. Z. da; SANTIAGO, T. **O que os engenheiros agrônomos devem saber para orientar o uso de produtos fitossanitários**. 3 ed. Viçosa: UFV: DFP, 2008. 464 p.