



## **Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal**

# **TOXICIDADE DE NOVOS AMINOARIL-FOSFORAMÍDICOS SOBRE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E SEU POTENCIAL INIMIGO NATURAL, *Polybia occidentalis* (HYMENOPTERA: VESPIDAE)**

**FRANCISCA XAVIER QUINTINO NETA**

**MESTRADO**

**Ipameri-GO**

**2024**

FRANCISCA XAVIER QUINTINO NETA

**TOXICIDADE DE NOVOS AMINOARIL-FOSFORAMÍDICOS  
SOBRE *Spodoptera frugiperda* (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E  
SEU POTENCIAL INIMIGO NATURAL, *Polybia occidentalis*  
(HYMENOPTERA: VESPIDAE)**

Orientador: Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus

Coorientador: Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo

Dissertação apresentada à  
Universidade Estadual de Goiás – UEG,  
Unidade Universitária de Ipameri, como  
parte das exigências do Programa de Pós-  
Graduação em Produção Vegetal para  
obtenção do título de MESTRE.

Ipameri – GO  
2024

Elaborada pelo Sistema de Geração Automática de Ficha Catalográfica da UEG  
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

X819t      XAVIER QUINTINO NETA, FRANCISCA  
              TOXICIDADE DE NOVOS AMINOARIL-FOSFORAMÍDICOS SOBRE  
              Spodoptera frugiperda (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) E SEU  
              POTENCIAL INIMIGO NATURAL, *Polybia occidentalis*  
              (HYMENOPTERA: VESPIDAE) / FRANCISCA XAVIER QUINTINO  
              NETA; orientador Flávio Gonçalves de Jesus ;  
              co-orientador Márcio da Silva Araújo. -- Ipameri,  
              2024.  
              41 p.

              Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação  
              Mestrado Acadêmico em Produção Vegetal) -- Unidade de  
              Ipameri, Universidade Estadual de Goiás, 2024.

              1. Fosforamidatos. 2. inseticida. 3. seletividade  
              de inseticida. 4. larvicida. I. Gonçalves de Jesus ,  
              Flávio , orient. II. da Silva Araújo, Márcio ,  
              co-orient. III. Título.

## CERTIFICADO DE APROVAÇÃO

**TÍTULO:** “Toxicidade de novos aminoaril-fosforamídicos sobre *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) e seu potencial inimigo natural, *Polybia occidentalis* (Hymenoptera: Vespidae).”

**AUTOR(A):** Francisca Xavier Quintino Neta

**ORIENTADOR(A):** Flávio Gonçalves de Jesus

Aprovado(a) como parte das exigências para obtenção do Título de MESTRE(A) EM PRODUÇÃO VEGETAL, pela comissão Examinadora:

Documento assinado digitalmente  
 **FLAVIO GONCALVES DE JESUS**  
Data: 07/10/2024 16:03:28-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Flávio Gonçalves de Jesus (Orientador)  
Instituto Federal Goiano Urutaí – GO

Documento assinado digitalmente  
 **WILLIAM PIRES DE MACEDO**  
Data: 01/10/2024 09:11:05-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. William Pires de Macedo

Universidade Estadual de Goiás/ Câmpus Henrique Santillo

Documento assinado digitalmente  
 **MARCIO DA SILVA ARAUJO**  
Data: 30/09/2024 16:29:24-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Márcio da Silva Araújo

Universidade Estadual de Goiás/ Unidade Universitária Ipameri – GO

Data da realização: 26 de Setembro de 2024

### Registro de Declaração

Número: 252 Livro: R-01 Folhas: 04A Data: 26/09/2024

Assinatura:

*Daqui só levamos uma coisa: o conhecimento!*

**Elson Quintino**

Ao meu pai, Elson Quintino das Neves (*in memoriam*), que como profissional da educação sempre estimulou seus filhos, netos e amigos a buscarem nesse caminho uma vida melhor.

Com muito carinho, saudade e amor,

***Dedico!***

## **AGRADECIMENTO**

Agradeço a Deus, pelo dom da vida e força diária pra realizar este trabalho!

Ao professor Márcio Araújo, por sua orientação e incentivo ao longo deste trabalho. Sua sabedoria, paciência e dedicação foram fundamentais para a realização desta dissertação.

Aos Professores William P. Macedo (UEG) e Flávio G. Jesus (IF Goiano), pelo apoio durante todas as fases de condução deste trabalho de dissertação. À Professora Anne C. G. Veloso pelas sugestões dadas para melhoria de texto do nosso trabalho.

À minha mãe, Maria Raimunda, pelo cuidado e amor inesgotáveis que sempre me dedicou, junto com meu pai, moldando-me na mulher que sou hoje. À minha irmã, Raycielle Alves, por ser minha fiel parceira e amiga. E à minha filha, Kiana Quintino, que chegou para me inspirar e dar a força necessária para concluir este trabalho. Meu amor por vocês transcende palavras.

Ao meu esposo, Keone Simões, que esteve ao meu lado durante esta jornada, mesmo a 3000 km de distância de casa. Sem seu apoio incondicional e amor constante, eu não teria conseguido. Você é o dono do meu coração e a luz que iluminou meu caminho, tornando cada desafio mais leve e cada conquista ainda mais significativa.

Com todo o amor e emoção do meu coração: ao meu querido pai, que partiu durante o meu mestrado, deixando um rombo irreparável na minha alma, agradeço eternamente por suas palavras de incentivo e por me tratar sempre como sua princesa. Seu amor incondicional e seu apoio constante serão eternamente lembrados e sentidos em cada batida do meu coração.

Agradeço à Cintia e Jaíara Oliveira pelo apoio no momento de maior dor em minha vida. Sempre me lembrarei de que, em meio às lágrimas, estiveram ao meu lado, dividindo a tristeza e oferecendo conforto. A presença solidária de vocês foi um consolo inesquecível. Juntas, trilhamos um caminho de aprendizado e crescimento, e cada momento compartilhado ficará gravado em minha memória com carinho.

À UEG, Unidade Ipameri por proporcionar o ambiente e os recursos necessários para a realização deste trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES, por custear a minha trajetória durante o período de mestrado acadêmico em Produção Vegetal.

Agradeço também aos funcionários da universidade, cujo trabalho muitas vezes invisível foi essencial para o andamento deste projeto. Cada gesto de apoio e cada sorriso no corredor fizeram a diferença.

E a todos aqueles que contribuíram de alguma forma para esta realização.

## Sumário

|                                                                                                                 |      |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------|
| RESUMO.....                                                                                                     | vii  |
| ABSTRACT .....                                                                                                  | viii |
| 1. INTRODUÇÃO .....                                                                                             | 9    |
| 2. OBJETIVO .....                                                                                               | 13   |
| 3. MATERIAL E MÉTODOS .....                                                                                     | 14   |
| 3.1. Processo de síntese, isolamento e identificação dos três novos compostos aminoaril-<br>fosforamídicos..... | 14   |
| 3.2 As condições de ambiente de realização dos ensaios biológicos .....                                         | 18   |
| 3.3 Criação estoque de <i>S. frugiperda</i> .....                                                               | 18   |
| 3.4 Coleta de <i>P. occidentalis</i> em campo e seu acondicionamento em laboratório.....                        | 19   |
| 3.5 Cultivo de milho para alimentação das lagartas de <i>S. frugiperda</i> tratadas.....                        | 19   |
| 3.6 Aplicação dos tratamentos.....                                                                              | 20   |
| 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....                                                                                  | 24   |
| 5. CONCLUSÃO.....                                                                                               | 32   |
| 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....                                                                             | 33   |

## RESUMO

Os fosforamidatos são uma classe de compostos que apresentam pelo menos um grupo  $-NR_1R_2$  ( $R_1$  e  $R_2$  = Alquila, Arila) ligado diretamente ao átomo de fósforo em suas estruturas. Compostos dessa classe são mencionados como potenciais agentes inseticidas. Neste trabalho, discorremos de forma genérica sobre a síntese de três novos composto aminoaril-fosforamídico e, em condições de laboratório, avaliamos a toxicidade letal desses compostos quando aplicados de forma tópica ao inseto praga *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), vulgarmente conhecida como “lagarta-do-cartucho-do-milho” e, também, seu efeito letal em organismo considerado potencialmente benéfico para a agricultura, incluindo essa praga, a vespa predadora *Polybia (Myrapetra) occidentalis* (Olivier, 1792) (Hymenoptera: Vespidae), vulgarmente conhecida como “marimbondo-farinha-seca”. Larvas de *S. frugiperda* usadas em experimento foram provenientes de criação em dieta artificial e, vespídeos adultos foram provenientes de colônias capturadas em campo e mantidas em laboratório. O efeito letal agudo (considerado em nosso trabalho até 72 horas da aplicação tópica) dos compostos fosforamidatos para as larvas de *S. frugiperda* foi significativamente menor, quando comparado ao tratamento controle (produto comercial). Entretanto, esse efeito letal agudo é significativamente maior no inseto benéfico (vespídeo). Após aplicação tópica dos compostos fosforamidatos, dieta alimentar *ad libitum* era oferecida aos insetos e, nessa condição, avaliou-se possível neuropatia tardia, inferida pela mortalidade de insetos ao longo do tempo. Para larvas de *S. frugiperda* (considerado até o tempo de 360 horas da aplicação tópica dos compostos), a  $DL_{50\%}$  para os compostos aminoaril-fosforamídicos 1, 2 e 3 foram respectivamente de 99,34, 28,10 e 80,28  $\mu\text{g}$  / mg de larva. Para operárias de *P. occidentalis*, a  $DL_{50\%}$  para os compostos fosforamídicos 1, 2 e 3 foram respectivamente de 68,71, 60,98 e 74,06  $\mu\text{g}$  / mg de vespídeo. Se considerarmos a regra de que o inseticida neurotóxicos devem promover rápida mortalidade da praga, os fosforamidatos investigados neste trabalho, em comparação com produto comercial de modo de ação semelhante, não se mostraram adequados para futuro uso em controle efetivo em lavouras. Além disso, eles se apresentam mais tóxico para o inseto benéfico (vespídeo) quando comparado com a praga.

**Palavras-chave:** Fosforamidatos; inseticida; seletividade de inseticida, larvicida.

## ABSTRACT

Phosphoramidates are a class of compounds that feature at least one -NR<sub>1</sub>R<sub>2</sub> group (R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> = Alkyl, Aryl) directly attached to the phosphorus atom in their structures. Compounds from this class are mentioned as potential insecticidal agents. In this work, we generally discuss the synthesis of three new aminoaryl-phosphoramidic compounds and, under laboratory conditions, we evaluated the lethal toxicity of these compounds when applied topically to the pest insect *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), commonly known as the "fall armyworm," as well as their lethal effect on an organism considered potentially beneficial to agriculture, including against this pest, the predatory wasp *Polybia (Myrapetra) occidentalis* (Olivier, 1792) (Hymenoptera: Vespidae), commonly known in Brazil as the "marimbondo-farinha-seca." *S. frugiperda* larvae used in the experiment were reared on an artificial diet, and adult wasps were collected from field colonies and maintained in the laboratory. The acute lethal effect (considered in our study up to 72 hours post topical application) of the phosphoramidate compounds on *S. frugiperda* larvae was significantly lower compared to the control treatment (a commercial product). However, this acute lethal effect was significantly higher on the beneficial insect (wasp). After the topical application of the phosphoramidate compounds, *ad libitum* food was offered to the insects, and under this condition, possible delayed neuropathy was assessed, inferred by insect mortality over time. For *S. frugiperda* larvae (considered up to 360 hours post topical application of the compounds), the LD<sub>50%</sub> for aminoaryl-phosphoramidic compounds 1, 2, and 3 were respectively 99.34, 28.10, and 80.28 µg/mg of larva. For *P. occidentalis* workers, the LD<sub>50%</sub> for phosphoramidic compounds 1, 2, and 3 were respectively 68.71, 60.98, and 74.06 µg/mg of wasp. Considering the rule that neurotoxic insecticides should promote rapid mortality of the pest, the phosphoramidates investigated in our study, compared to a commercial product with a similar mode of action, were not found to be suitable for future use in effective crop control. Moreover, they appear to be more toxic to the beneficial insect (wasp) compared to the pest.

**Keywords:** Phosphoramidates; insecticide; insecticide selectivity, larvicide.

## 1. INTRODUÇÃO

Os insetos-praga são as principais causas de perdas de colheitas agrícolas em todo o mundo e o manejo delas desempenha um papel crítico no fornecimento de segurança alimentar e rendimentos econômicos para o agricultor (ZHANG et al., 2018). Para manejo desses organismos, a estratégia mais antiga e, ainda a mais empregada é baseada em substâncias inseticidas, de origem natural ou sintética, utilizadas nas diferentes fases do ciclo de vida dos insetos-praga (MOREIRA et al., 2012).

O uso generalizado de organofosforado como inseticida se deu a partir da segunda metade do século 20 (OLIVEIRA et al. 2008). Tais inseticidas são os mais amplamente utilizados no mundo, com mais de 35.000 formulações diferentes (SANTOS et al., 2015). Juntamente com os carbamatos, ainda representam 40% do mercado mundial de inseticidas (CASIDA e DURKIN, 2013).

Organofosforados (OP) são substâncias químicas produzidas pelo processo de esterificação entre o ácido fosfórico e o álcool. Os organofosforados podem sofrer hidrólise com a liberação de álcool da ligação éster. Esses produtos químicos são os principais componentes de herbicidas, pesticidas e inseticidas (ADEYINKA et al., 2022). Os inseticidas organofosforados, após contato ou ingestão pelo inseto, inibem a acetilcolinesterase (AChE), uma enzima do sistema nervoso central e periférico de insetos que degrada o neurotransmissor acetilcolina. A inibição da AChE leva ao acúmulo da acetilcolina (ACh) nas fendas sinápticas, já que esta é responsável por hidrolisar a ACh produzindo colina e acetato; portanto, sob efeito desse inseticida, é verificado hiperatividade nervosa e consequente colapso do sistema nervoso, desencadeando o processo de paralisia e morte do inseto (WARE, 2000; RICHARDSON e MAKHAEVA, 2014).

A principal razão para o sucesso dos compostos organofosforados como inseticidas é sua forte atividade biológica (ZHU et al., 2020) acoplada com sua relativa instabilidade na

biosfera, que se traduz em uma meia-vida em plantas da ordem de 2 até 10 dias (SANTOS et al., 2007). Além disso, segundo Santos et al. (2007), tal interesse deve-se à facilidade de síntese de novos derivados, à possibilidade de síntese de pró-inseticidas, que sofrem ativação preferencial em insetos e não em mamíferos. Os organofosforados apresentam baixa ação residual, com pouca estabilidade no meio ambiente e acumulação limitada

Segundo Richardson & Makhaeva (2014), os compostos organofosforados (OP) são referidos genericamente como organofosfatos. Entretanto, este é um subconjunto específico que compreende derivados do ácido fosfórico. Muitos outros derivados são possíveis, como fosforotioatos, fosfonatos, fosfinatos e fosforamidatos. Inseticidas OP são tipicamente organofosforados ou organofosforotioatos. Exemplo conhecidos deles são os organofosforados (Fenthion, Fenitrothion, Parathion, Malathion, Dursban e Demothon-S) e, os organofosfotioatos (Ethion, Fonophos, Disulfoton, Acetofos e Danifos).

Os fosforamidatos são uma classe de compostos que apresentam pelo menos um grupo  $-NR_1R_2$  ( $R_1$  e  $R_2$  = Alquila, Arila) em suas estruturas (LAGES, 2016). Compostos dessa classe também são usados como inseticidas (OLIVEIRA et al., 2014; MOTA et al., 2023). Exemplos desses inseticidas são Acephato, Isoscarbophos, Amidotioato e Avenin. Segundo Santos et al. (2007) e Mota et al. (2023), entretanto, número pequeno de compostos dessa classe foi desenvolvido para uso como inseticida; isso, devido à dificuldade de síntese e sérios problemas de toxicidade para mamíferos. Embora com essas limitações, esses inseticidas são ainda largamente comercializados em todo o mundo (MOTA et al, 2023). Segundo Paula et al. (2008), para contornar esse problema, fosforamidatos derivados de aminas secundárias e terciárias, inibidores mais fracos de AchE, a partir de trabalhos desenvolvidos por Hudson (1996) têm sido sintetizados.

A simples toxidez de uma substância química não a qualifica como inseticida. Além desse parâmetro, a eficácia em baixas concentrações, a ausência de toxidez frente a mamíferos,

a ausência de fitotoxicidade, a fácil obtenção, a fácil manipulação e aplicação, a viabilidade econômica e não ser cumulativo em tecido gorduroso de humanos e animais domésticos devem ser considerados (SANTOS et al., 2007). Essas características citadas são de um inseticida tido como ideal e, evidentemente, rara; portanto, esforços para desenvolvimento de novas compostos inseticidas deve ser uma constante.

As três novas moléculas sintéticas de fosforamidatos investigadas neste trabalho foram obtidas a partir da reação de monofosforilação da fenilenodiamina com o fosfito de dibutila em sistema bifásico sólido-líquido, empregando-se hexacloroetano (catalisador), carbonato de potássio (base), brometo de tetrabutilamônio (promotor de transferência de fase) e diclorometano.

Os insetos usados como modelo biológico em nosso experimento é uma praga polífaga que ataca preferencialmente a cultura do milho, *Spodoptera frugiperda* (Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae), vulgarmente conhecida como “lagarta-do-cartucho-do-milho” ou simplesmente “lagarta-do-cartucho” e, *Polybia (Myrapetra) occidentalis* (Olivier, 1792) (Hymenoptera: Vespidae) (SIBBR, 2023), uma vespa predadora conhecido vulgarmente como “marimbondo-farinha-seca” ou “marimbondo-estrela” (SOUZA e ZANUNCIO, 2012).

A *S. frugiperda*, é originária das Américas, mas tornou-se uma praga invasora na África em 2016, na Ásia em 2018 e, em tempo mais recentemente, na Oceania, em 2020 (WAN et al., 2021). Esta espécie é altamente polífaga e é relatado por atacar mais de 350 plantas comerciais e não comerciais, principalmente Poaceae, Asteraceae e Fabaceae (MONTEZANO et al., 2018). Segundo estatísticas da “Food and Agriculture Organization of the United Nations” (FAO), só o Brasil gasta em torno de US\$ 600 milhões todos os anos em tentativas de controlar essa praga (WILD, 2017).

Vespas, de maneira geral, polinizam uma grande diversidade de plantas e predam insetos fitófagos que causam grandes prejuízos para a agricultura (PICANÇO et al., 2010; JACQUES

et al., 2018). Segundo Kökler & Lemes (2014), *P. occidentalis* apresenta uma mancha basal no clípeo e genas com marcas amarelas evidentes. Segundo esses autores, essa espécie é reconhecida principalmente por não possuir a margem posterior do pronoto ampla. Os ninhos dessas vespas são compostos de vários favos sobrepostos, cobertos por envelope protetor, principalmente expostos, na face abaxial de folhas (SOMAVILLA et al, 2012), comumente encontrados na face abaxial de folhas de *Bismarckia nobilis* Hildebr. & Wendl. (1881), vulgarmente conhecida como “palmeira azul” (comunicação pessoal do entomólogo, Prof. Márcio Silva Araújo, no Município de Ipameri, GO, Brasil).

As vespas sociais são insetos de suma importância para o meio ambiente devido ao seu papel ecológico por atuarem como polinizadores e, também, pela sua alimentação generalista, predando insetos prejudiciais à agricultura (BARBOSA et al., 2022); portanto, atuando no equilíbrio trófico dos ecossistemas (RESENDE et al., 2001; PREZOTO et al., 2006; PICANÇO et al., 2010; JACQUES et al., 2018, BARBOSA et al., 2022). É notório que intervenções humanas como aquelas relacionadas ao uso de inseticidas colocam em risco a sobrevivência desses insetos (BACCI et al., 2000).

## 2. OBJETIVO

Em condições de laboratório, investigar a toxicidade de três novos compostos aminoaril-fosforamídicos sobre uma população da lagarta-do-cartucho-do-milho *S. frugiperda* e, também, efeito inseticidas desses mesmos compostos sobre potencial agente de controle biológico dessa praga, o vespídeo *P. occidentalis*.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1. Processo de síntese, isolamento e identificação dos três novos compostos aminoaril-fosforamídicos

Os compostos aminoaril-fosforamídicos usados em nosso experimento de toxicidade foram sintetizados no Laboratório de Química da Universidade Estadual de Goiás (Câmpus Henrique Santillo). A metodologia de síntese desses compostos foi a mesma adotada por Mascarenhas (2022). Nosso trabalho enfatizou somente a avaliação de toxicidade desses compostos aos insetos; portanto, os procedimentos químicos detalhados de síntese devem ser consultados em trabalho dessa referida autora. A seguir, é apresentado de maneira genérica, a descrição metodológica de obtenção desses fosforamidatos e, sua caracterização química.

Sob pressão atmosférica, em um balão bitubulado de 125 mL (junta esmerilhada) contendo a fenilenodiamina apropriada (0,020 mol; 2,16 g), carbonato de potássio (0,022 mol; 3,0 g), brometo de tetrabutilamônio (0,062 mmol; 0,02 g) e diclorometano (5 mL) sob agitação, adicionou-se lentamente, com auxílio de um funil, uma solução contendo fosfito de dibutyla (0,010 mol; 1,95 mL) e hexacloroetano (0,015 mol; 3,55 g) em diclorometano (10 mL) (ver rota em figura 1).

O tempo de adição da solução contendo fosfito foi de aproximadamente 10 minutos, em banho de gelo e após a adição ser concluída, a agitação foi mantida por mais 1 hora em banho de gelo e depois por mais 23 horas à temperatura ambiente, até consumo total do fosfito de dibutyla que foi acompanhado por cromatografia de camada delgada. Posteriormente, a mistura foi filtrada em papel filtro, para a remoção do carbonato de potássio e o cloreto de potássio que são gerados na reação, e que não são de interesse, desta forma, foi possível isolar a fase orgânica.

O filtrado foi transferido para um funil de separação e lavado com ácido clorídrico 0,2% (3x10 mL) e água (1x10 mL). O processo de extração com ácido clorídrico foi feito para

remover a diamina que estava presente em excesso. Com a presença desse ácido, a diamina foi protonada e transportada da fase orgânica para a fase aquosa, um processo importante na etapa de isolamento reacional. Por fim, a fase orgânica também foi tratada com água, para a remoção de resíduos inorgânicos de não interesse.

Na fase seguinte, juntou-se as fases orgânicas e utilizou-se o sulfato de sódio anidro para a remoção de qualquer resíduo aquoso nas mesmas, e, logo depois, a solução foi filtrada. O solvente foi removido em evaporador rotativo, gerando um resíduo sólido/óleo. O resíduo gerado foi recristalizado, adicionando-se cerca de 60 mL de éter de petróleo. A utilização de éter de petróleo se faz necessária para a importante etapa final de recristalização dos sólidos. O sistema foi mantido em agitação por 24 horas. Ao final, filtrou-se o decantado formado, obtendo-se produto sólido branco, com rendimento entre 40 e 50%.

Cada reagente possui uma contribuição específica na obtenção dos produtos. O hexacloroetano atua como catalisador, já o carbonato de potássio atua como base, e o brometo de tetrabutilamônio é um promotor de transferência de fase para o carbonato de potássio, visto que é um composto inorgânico e deve permanecer na fase orgânica para sua atuação como base. Rota sintética simplificada para a produção dos novos compostos aminiaril-fosforamídicos investigados neste trabalho é apresentada na figura 1.

Pelas análises preliminares, a partir dos espectros vibracionais de absorção na região do IV do fosfito de dibutila e dos produtos obtidos, não se observou a banda de estiramento em cerca de  $2427\text{ cm}^{-1}$  referente à ligação P-H da forma pentavalente do fosfito de dibutila, o que confirma o consumo deste material de partida. As bandas de estiramento das ligações P=O e bandas de deformação de P-O-C do grupo fosforila, típico do composto organofosforado esperado foram identificadas entre as regiões de 500 e  $4.500\text{ cm}^{-1}$ . A caracterização dos novos fosforamidatos é apresentada nas tabelas 1, 2, 3 e 4.

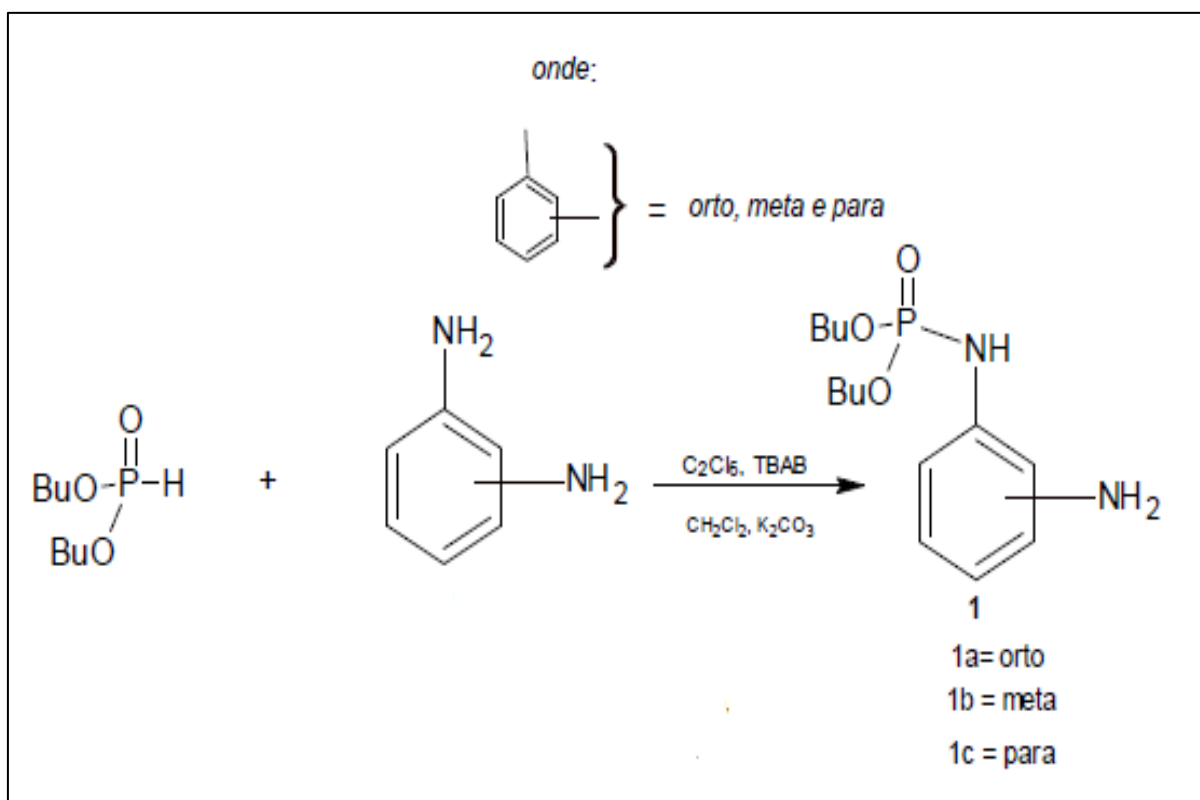


**Figura 1.** Rota sintética para a produção dos novos compostos aminiaril-fosforamídicos (1a,b,c) investigados neste estudo de toxicidade para os insetos *Spodoptera frugiperda* e *Polybia occidentalis*. TBAB = brometo de tetrabutilamônio

**Tabela 1.** Caracterização dos composto aminoaril-fosforamídicos investigados neste estudo de toxicidade aos insetos. Dados relativos à absorção no IV e respectivo rendimento obtidos no processo de síntese.

| Composto                  | V NH<br>(cm <sup>-1</sup> ) | V P=O<br>(cm <sup>-1</sup> ) | δ P-O-C<br>(cm <sup>-1</sup> ) | V P-N<br>(cm <sup>-1</sup> ) | Rendimento<br>(%) |
|---------------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------------|------------------------------|-------------------|
| Aminoaril-fosforamidato 1 | 3378,3223                   | 1206                         | 990                            | 745                          | 44                |
| Aminoaril-fosforamidato 2 | 3376,3216                   | 1204                         | 981                            | 756                          | 41                |
| Aminoaril-fosforamidato 3 | 3371,3211                   | 1205                         | 991                            | 739                          | 48                |

**Tabela 2.** Principais assinalamentos do derivado aminoaril-fosforamídico 1, em espectrometria no infravermelho (IV) e ressonância nuclear magnética (RNM) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$ .

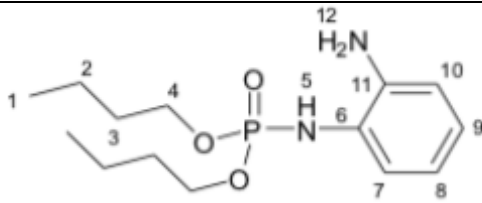
|                                                                                   |                 |                             |                 |                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|-----------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                 |                             |                 | IV (cm <sup>-1</sup> )                                                                                                                                              |
| RNM                                                                               |                 |                             |                 |                                                                                                                                                                     |
| Nº                                                                                | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H              | <sup>31</sup> P |                                                                                                                                                                     |
| 1                                                                                 | 13,6            | 0,87 (6H, t, J = 7,25)      | 4,45            | 3220 (largo ν NH)<br>2961, 2874 (ν CH sp <sup>3</sup> )<br>1656 (δ NH)<br>1589, 1508, 1426 (ν C=C)<br>1292 (ν cAr-N)<br>1204 (ν P=O)<br>980 (ν P-O)<br>749 (γ =C-H) |
| 2                                                                                 | 18,7            | 1,34 (4H, sex, J = 7,45)    |                 |                                                                                                                                                                     |
| 3                                                                                 | 32,2            | 1,61 (4H, qui, J = 7,12)    |                 |                                                                                                                                                                     |
| 4                                                                                 | 66,5            | 4,04 (4H, m)                |                 |                                                                                                                                                                     |
| 5                                                                                 | -               | 6,39 (1H, d, J = 8,5)       |                 |                                                                                                                                                                     |
| 6                                                                                 | 126,6           | -                           |                 |                                                                                                                                                                     |
| 7                                                                                 | 127,7           | 7,11 (1H, d largo, J = 8,0) |                 |                                                                                                                                                                     |
| 8                                                                                 | 119,5           | 6,73 (2H, m)                |                 |                                                                                                                                                                     |
| 9                                                                                 | 120,7           | 6,86 (1H, t, J = 7,62)      |                 |                                                                                                                                                                     |
| 10                                                                                | 117,1           | 6,73 (2H, m)                |                 |                                                                                                                                                                     |
| 11                                                                                | 137,3           | -                           |                 |                                                                                                                                                                     |
| 12                                                                                | -               | 4,46 (2H, s largo)          |                 |                                                                                                                                                                     |

**Tabela 3.** Principais assinalamentos do derivado aminoaril-fosforamídico 2, em espectrometria no infravermelho (IV) e ressonância nuclear magnética (RNM) de  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$  e  $^{31}\text{P}$ .

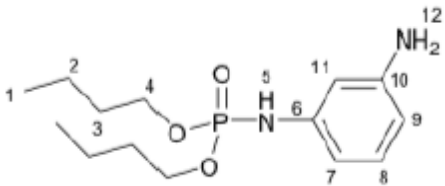
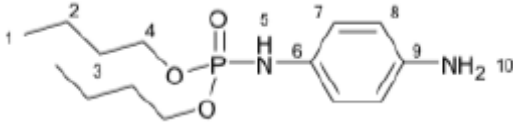
|                                                                                     |                 |                            |                 |                                                                                                                                                         |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-----------------|----------------------------|-----------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                 |                            |                 | IV (cm <sup>-1</sup> )                                                                                                                                  |
| RNM                                                                                 |                 |                            |                 |                                                                                                                                                         |
| Nº                                                                                  | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H             | <sup>31</sup> P |                                                                                                                                                         |
| 1                                                                                   | 13,5            | 0,87 (6H, t, J = 7,5)      | 2,74            | 3354, 3216 (ν NH)<br>2961, 2874 (ν CH sp <sup>3</sup> )<br>1608 (δ NH)<br>1495 (ν C=C)<br>1306 (ν cAr-N)<br>1223 (ν P=O)<br>992 (ν P-O)<br>784 (γ =C-H) |
| 2                                                                                   | 18,7            | 1,35 (4H, sex, J = 7,45)   |                 |                                                                                                                                                         |
| 3                                                                                   | 32,2            | 1,62 (4H, qui, J = 7,0)    |                 |                                                                                                                                                         |
| 4                                                                                   | 66,4            | 4,02 (4H, m)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 5                                                                                   | -               | 6,4 (1H, d largo, J = 8,5) |                 |                                                                                                                                                         |
| 6                                                                                   | 145,2           | -                          |                 |                                                                                                                                                         |
| 7                                                                                   | 109,6           | 6,63 (1H, m)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 8                                                                                   | 130,0           | 7,02 (1H, t)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 9                                                                                   | 105,4           | 6,51 (2H, m)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 10                                                                                  | 140,9           | 6,73 (2H, m)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 11                                                                                  | 109,0           | 6,51 (2h, m)               |                 |                                                                                                                                                         |
| 12                                                                                  | -               | 4,81 (2H, s largo)         |                 |                                                                                                                                                         |

**Tabela 4.** Principais assinalamentos do derivado aminoaril-fosforamídico 3, em espectrometria no infravermelho (IV) e ressonância nuclear magnética (RNM) de <sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C e <sup>31</sup>P.

|                                                                                   |                 |                              |                 |                                                                                                                                           |
|-----------------------------------------------------------------------------------|-----------------|------------------------------|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
|  |                 |                              |                 | IV (cm <sup>-1</sup> )                                                                                                                    |
| RNM                                                                               |                 |                              |                 |                                                                                                                                           |
| Nº                                                                                | <sup>13</sup> C | <sup>1</sup> H               | <sup>31</sup> P |                                                                                                                                           |
| 1                                                                                 | 13,5            | 0,87 (6H, t, J = 7,50)       | 4,10            | 3364 3202(ν NH)<br>2959, 2873 (ν CH sp <sup>3</sup> )<br>1518, 1479 (ν C=C)<br>1210 (ν P=C)<br>989(ν P=O)<br>829 (γ =C-H)<br>780 (γ =C-C) |
| 2                                                                                 | 18,7            | 1,35 (4H, sex, J = 7,45)     |                 |                                                                                                                                           |
| 3                                                                                 | 32,2            | 1,62 (4H, qui, J = 7,00)     |                 |                                                                                                                                           |
| 4                                                                                 | 66,2            | 4,02 (4H, m)                 |                 |                                                                                                                                           |
| 5                                                                                 | -               | 6,28 (1H, d largo, J = 9,50) |                 |                                                                                                                                           |
| 6                                                                                 | 134,0           | -                            |                 |                                                                                                                                           |
| 7                                                                                 | 132,1           | 6,86 (2H, d, J = 8,50)       |                 |                                                                                                                                           |
| 8                                                                                 | 118,5           | 6,66 (2H, d, J = 8,50)       |                 |                                                                                                                                           |
| 9                                                                                 | 139,7           | -                            |                 |                                                                                                                                           |
| 10                                                                                | -               | Não foi observado            |                 |                                                                                                                                           |

Essas atribuições relacionadas ao aminoaril-fosforamidatos foram embasadas em conceitos teóricos relacionados a aspectos eletrônicos dos compostos aromáticos, bem como na comparação com estruturas análogas descritas na literatura (PRETSCH et al., 2020).

### 3.2 Condições de ambiente de realização dos ensaios biológicos

Os ensaios biológicos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia da UnU Ipameri, Universidade Estadual de Goiás, em sala climatizada com temperatura de 25 ± 2 °C, umidade relativa de 67 ± 10% e, fotoperíodo, de 12 horas.

### 3.3 Criação estoque de *S. frugiperda*

A criação das lagartas foi iniciada a partir de posturas de criação artificial obtidas do Laboratório de Entomologia Agrícola da Universidade do Oeste de São Paulo (UNOESTE), Estado de São Paulo, Brasil. Assim que os ovos eclodiam, larvas eram transportadas para a dieta artificial à feijão, conforme metodologia de Pinto et al. (2019), até atingirem o terceiro

instar; nessa fase de desenvolvimento, foram retiradas da dieta e expostas aos tratamentos investigados.

### **3.4 Coleta de *P. occidentalis* em campo e seu acondicionamento em laboratório**

Ninhos de *P. occidentalis* foram capturados em campo e mantidos em laboratório, de onde foram retiradas as operárias para a realização dos testes biológicos. Com uso de macacão de apicultor, e escada, os ninhos foram coletados no período noturno, o que minimizou distúrbios na colônia e, ataques de operárias ao coletor dos ninhos. Os ninhos foram cuidadosamente removidos das folhas da planta e imediatamente acondicionados em caixas de madeira (40 x 30 x 30 cm) e levados ao mesmo laboratório onde estavam acondicionadas as larvas de *S. frugiperda*. Um dos lados dessa caixa de madeira era em forma de alçapão, com tampa de vidro e, em lado oposto, com tecido tipo “filó”, que podia ser parcialmente aberto para a cuidadosa entrada de um tubo coletor de operárias do vespídeo (sugador bucal). Uma placa de Petri contendo um chumaço de algodão foi mantida em fundo da gaiola, e, esse, era diariamente umedecido com água, por meio de uma piseta para eventual hidratação de operárias do inseto. Imagens relacionadas ao ninho do inseto em condições naturais e de caixa de madeira para manutenção de ninhos em laboratório são mostrados na figura 2.

### **3.5 Cultivo de milho para alimentação das lagartas de *S. frugiperda* tratadas**

Uma vez retiradas da dieta artificial, as lagartas de *S. frugiperda* eram tratadas com prováveis compostos inseticidas e colocadas para alimentar-se, de forma *ad libitum* em dieta natural, ou seja, partes de folhas jovens e frescas de milho, em copos de 250 mL. Para isso, planta de milho foram cultivadas em casa de vegetação na Universidade Estadual de Goiás, cidade de Ipameri. Foram utilizados vasos com capacidade de 8,0 litros, compostos por mistura de terra, areia e esterco bovino na proporção de 2:1:1, contendo cinco sementes do cultivar não transgênico (AG 1051), que foram irrigados diariamente, livres de aplicação de inseticidas e/ou

outros defensivos, que pudessem interferir em resultados experimentais.



**Figura 2.** Planta de *Bismarckia nobilis*, vulgarmente conhecida como “palmeira azul” com um ninho de *Polybia (Myrapetra) occidentalis* naturalmente fixado na face abaxial da sua folha e, ao seu lado, de forma ampliada, registros desse mesmo ninho com visível quantidade de operárias fora do mesmo e, uma operária forrageadora. Também, detalhe de uma caixa de madeira com tampa de vidro, usado para manutenção de uma das colônias desses vespídeo em laboratório. Ipameri, GO, 2024.

### 3.6 Aplicação dos tratamentos

Para efeito comparativo, as doses dos compostos inseticidas fosforamidatos usadas neste trabalho foram próximas àsquelas usadas também na exploração de possíveis fosforamidatos inseticidas por Oliveira et al. (2008). Entretanto, para a específica larva de *S. frugiperda* alvo de nosso estudo, expressiva mortalidade larval (próximas à 90%) foi obtida com doses maiores às verificadas por esses autores mencionados e, também, a morte do inseto se dava após maior tempo da exposição aos inseticidas. Assim, a partir de uma maior dose (900 µg de composto inseticida/larva), estabeleceram-se gradativas menores doses para ajuste de uma curva dose vs mortalidade. Demais doses usadas foram 640, 320, 126, 80, 40, 20, 10 e 5,0 µg de composto inseticida/larva.

O efeito inseticida foi feito de forma tópica, ou seja, com uso de microseringa, de capacidade de 10 µL, aplicando doses estipuladas (em volume de 1,0 µL na região notal da larva e do vespídeo, conforme metodologia de Oliveira et al. (2008). Em testes preliminares foi escolhido o solvente adequado para dissolver os compostos fosforamidatos, de natureza sólida, que foi acetona/água, na proporção 6:4. Esse mesmo solvente foi utilizado para dissolver o Acephato (tratamento controle positivo), o mesmo solvente, que segundo PPDB (2024), trata-se de inseticida altamente solúvel em água, acetona ou etanol.

Para comparar eficiência em quesito mortalidade de lagarta, avaliou-se a dosagem 8%, equivalente à 80 µg / inseto (= 11,64 µg / mg de peso larval) de todos os compostos testados.

Particularmente para os vespídeos, sabido de sua agressividade, após sua retirada da caixa de madeira, fazia-se necessário uma curta imobilização para possibilitar a aplicação do inseticida. Assim, lotes de insetos eram colocados em refrigerados por tempo de 1 (um) minuto para sua imobilização, destacando que em testes preliminares, esse referido tempo em refrigeração não provocou nenhum registro de mortalidade ou imobilidade permanente perceptível a olho nu.

Depois de tratados, insetos permaneceram em recipientes de plástico transparente (250 mL), com tampa, contendo alimento, ou seja, folhas para as lagartas e mel a 10% e água para vespídeos (conforme figura 3). Após tratamento, avaliações de mortalidade (visível imobilidade) de insetos foram realizadas às 12, 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168, 192, 216, 240, 264 e 288 horas, para vespídeos e para lagartas, continuou-se a cada 24 horas até atingir 360 horas.

Imagens das larvas de terceiro ínstar momentos antes de receber os tratamentos com inseticidas, as plantas de milho cultivadas para experimento e, copo de 250 mL forrado com papel filtro umedecido diariamente, com o fragmento de folha fresca inicialmente oferecido para as larvas se alimentarem, imediatamente após o tratamento com inseticidas testados

(Figura 3).

O procedimento para elaboração de curva dose vs mortalidade de operárias adultas do vespídeo foi adequado conforme o tratamento para as larvas de *S. frugiperda*; tal como para as lagartas, em testes preliminares, estabeleceu-se uma dose que promovia expressiva mortalidade das operárias (acima de 90%) e, a partir dessa dose, que foi estabelecida como 120  $\mu\text{g}$  de composto inseticida/inseto, definiu-se doses gradativas menores, que foram de 80, 40, 20, 10 e 5,0  $\mu\text{g}$  de composto inseticida/inseto.

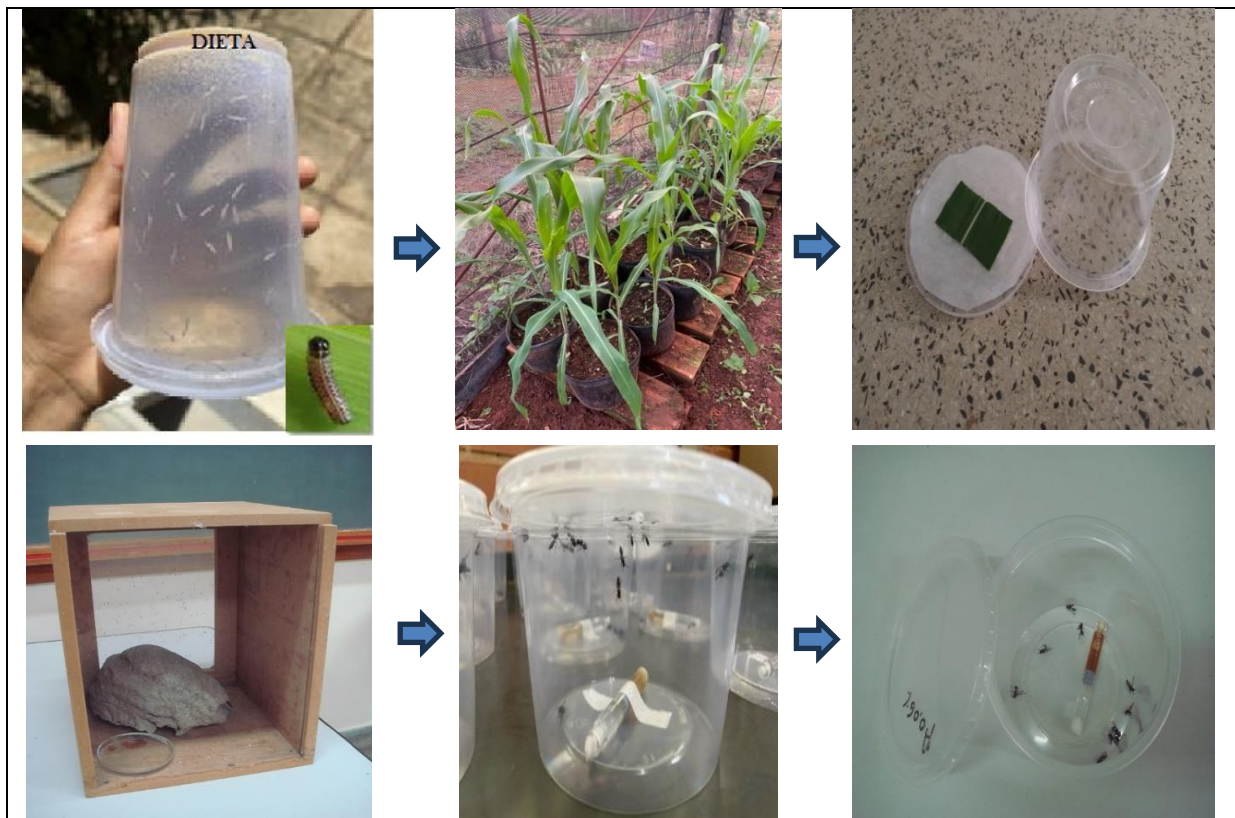


**Figura 3.** No plano superior, larvas de terceiro instar de *Spodoptera frugiperda* criadas em dieta artificial, depois de tratadas com compostos inseticidas em teste, são transferidas para recipientes de plástico forrado com papel filtro umedecido contendo fragmento de folha fresca de milho convencional, cultivado em casa de vegetação. Em plano inferior, uma unidade experimental minutos após 10 vespídeos receberem o tratamento inseticida e, após 72 horas de aplicação, com vespídeos mortos.

A unidade amostral era constituída de um recipiente de plástico de 250 mL, com tampa, contendo 10 vespídeos de uma mesma colônia, tratados com específico composto inseticida. Para esse estudo, foram usados vespídeos coletados em sete ninhos. Para efeito de comparação, utilizou-se doses da formulação inseticida Acephato (usada como controle positivo) similares às usadas para lagartas e vespídeos. A maior dose 0,9 mg da formulação Acephato (97%) por lagarta e, a mesma formulação, em dose de 0,16 mg da formulação por vespídeo.

Os dados de mortalidade larval de *S. frugiperda* e de operárias de *P. occidentalis* entre os tratamentos foram comparados por análise de variância e, suas médias, comparadas pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância. A relação dose vs mortalidade foi ajustada pelo modelo não paramétrico logístico, a 5% de significância. As curvas de sobrevivência de insetos tratados com os inseticidas ao longo do tempo foram comparadas pelo teste Log-Rank, a  $P < 0,05$  e, comparações múltiplas desses tratamentos foram feitas pelo método Holm-Sidak, a  $P < 0,05$ . As análises foram realizadas com o auxílio do software R versão 4.1.1 (R CORE TEAM, 2022).

#### 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Dados comparativos de toxicidade tópica aguda entre os novos compostos aminoaril-fosforamídicos e o Acephato (produto comercial) para as larvas de *S. frugiperda* na concentração 8% (p/v), que equivaleu a 80 µg do produto inseticida/inseto são apresentados na tabela 5. Considerando que o peso médio das larvas de terceiro ínstar dessas larvas pesavam em torno de 6,87 mg, a dose usada, portanto, foi de 11,65 µg/mg de inseto). Comparado ao composto Acephato, os três novos fosforamidatos testados (designados aminoaril-fosforamídicos 1, 2 e 3) foram significativamente menos tóxicos para as larvas (Scott-Knott, a  $p < 0,05$ ). Na referida concentração testada, a mortalidade larval a curto prazo, até 72 horas da aplicação, foi considerada muito baixa. Oliveira (2008) investigaram toxicidade de vários compostos fosforamidatos para larvas do inseto *Diaphania nitidalis* e, para esse inseto, com dosagem equivalente, encontraram mortalidade larval em torno de variando de 95% após 72 horas de exposição tópica desses compostos.

**Tabela 5.** Taxas de mortalidade larval aguda média (%) de *Spodoptera frugiperda* submetidas a aplicação tópica dos três novos compostos aminoaril-fosforamídicos e, do tratamento controle (Acephato, produto comercial), em distintos tempos. A concentração dos compostos testados foi a de 8%, equivalente à 80 µg do composto inseticida / inseto (= 11,65 µg / mg de inseto).

| Tratamento           | Mortalidade aguda média de larvas (%) |          |          |          |
|----------------------|---------------------------------------|----------|----------|----------|
|                      | 12 horas                              | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Fosforamidato 1      | 0 aA                                  | 0 aA     | 6,66 aA  | 6,66 aA  |
| Fosforamidato 2      | 6,66 aA                               | 20,00 aA | 20,00 aA | 33,33 aA |
| Fosforamidato 3      | 13,33 aA                              | 13,33 aA | 20,00 aA | 26,66 aA |
| Acephato (comercial) | 73,33 bA                              | 73,33 bA | 80,00 bA | 80,00 bA |

Médias de mortalidade larval seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si (Scott-Knott, a  $p < 0,05$ ).

Importante destacar que produtos inseticidas que promovem rápida mortalidade como o destacado no tratamento controle positivo (Acephato), são os de interesse da indústria de

agroquímicos (WARE, 2000). Inseticidas neurotóxicos como os testados neste trabalho, em regra, deveriam, idealmente, promover rápida mortalidade. Gonçalves et al. (2012) denominam essa regra como “efeito de choque”. Para inseticidas organofosforados, por exemplo, Oliveira et al. (2008) e Gonçalves et al. (2016) limitam-se a apresentar somente resultados toxicológicos até 72 horas da aplicação desses inseticidas. Entretanto, O’Malley & O’Mallet (2024), não especificamente para inseto, destacaram o efeito colinérgico agudo de inseticidas fosforados e, o fato desses inseticidas se ligarem de forma irreversível à acetilcolinesterase; possivelmente, devido a isso, destaca vários efeitos tardios em organismos exposto a esses compostos. Por exemplo, esses mesmos autores relatam que intoxicação de humanos por organofosforados (por exemplo, clorpirifós) podem causar neuropatia axônica que começa em 1 a 3 semanas após a exposição. Neste trabalho, apresentamos somente dados de mortalidade dos insetos, entretanto alterações deletérias, não necessariamente a morte, a longo prazo, deve ser investigada em trabalhos futuros; por exemplo, apesar de não quantificado neste trabalho, sob efeito do composto fosforamidatos, notou-se redução em alimentação das larvas nas primeiras horas da exposição a esses compostos. Exposição à concentrações/doses subletais de insetos à inseticidas neurotóxicos podem afetar sua fisiologia e sobrevivência (GUEDES et al., 2016).

Até 72 horas da aplicação dos três novos compostos aminoaril-fosforamídicos, por notar reduzida mortalidade larval de *S. frugiperda* (ver tabela 5), mostrando não significativo efeito larvicida quando comparado ao tratamento controle positivo ( $< 33,33\%$ ), ajustamos o modelo estatístico logístico para definição de doses letais (DL) de composto inseticida para tempo tardio de 360 horas (Figura 4). Considerando-se A  $DL_{50\%}$ , o aminoaril-fosforamídico 2 apresenta maior toxicidade ( $DL_{50\%} = 28,10 \mu\text{g/larva}$ ), seguido pelo aminoaril-fosforamídico 3 ( $DL_{50\%} = 80,28 \mu\text{g/larva}$ ) e aminoaril-fosforamídico 1 ( $DL_{50\%} = 99,34 \mu\text{g/larva}$ ). A dosagem testada do aminoaril-fosforamídico 2 ( $640 \mu\text{g/larva}$ ) promoveu mortalidade larval de 100%.

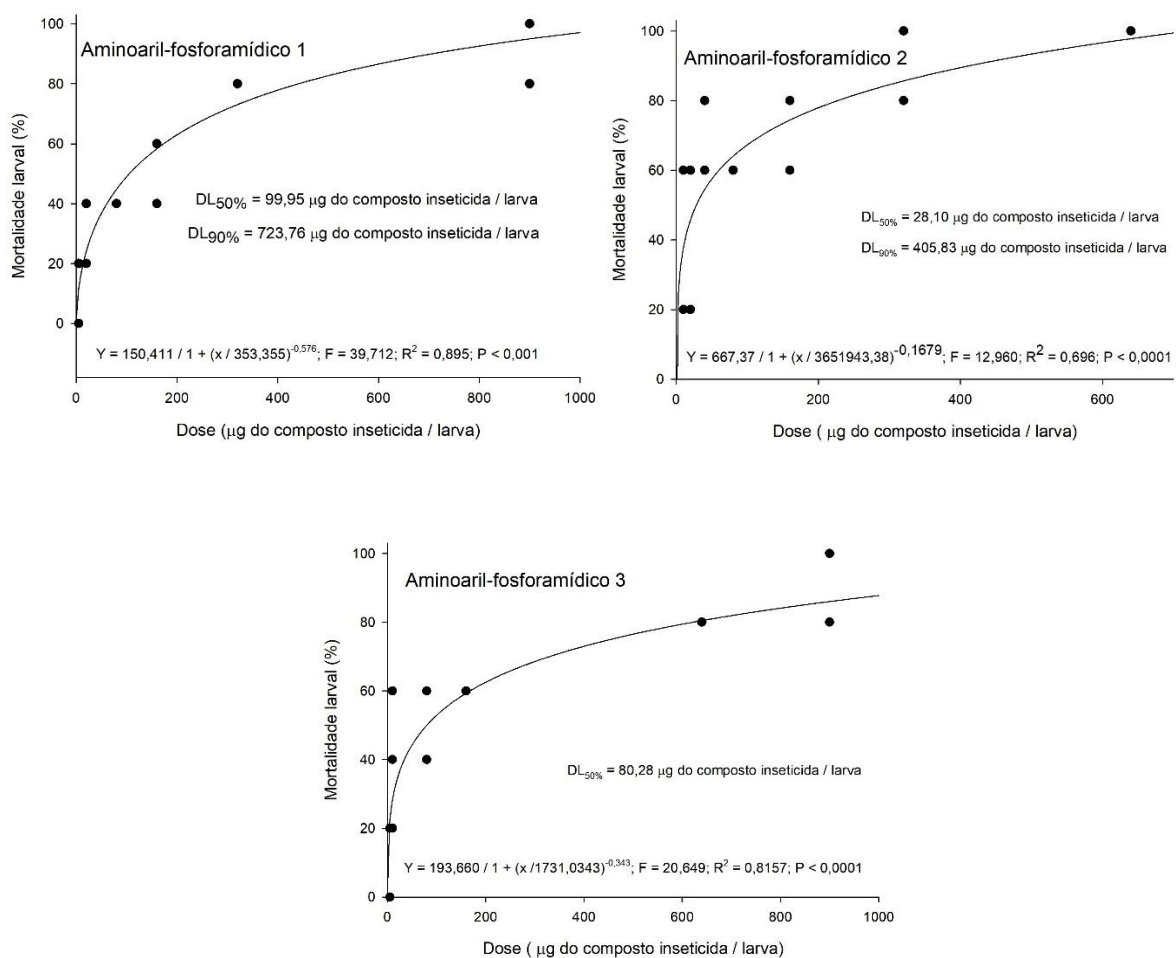


**Figura 3.** Toxicidade dos três compostos aminoaril-fosforamídicos investigados para larvas de *Spodoptera frugiperda*. Os valores de Dose letal (DL) foram estimados usando o modelo de regressão logístico. Mortalidade registrada até 360 horas de aplicação tópica dos compostos inseticidas.

Na figura 5 é apresentado os dados referentes a sobrevivência de larvas de *S. frugiperda* ao longo do tempo após aplicação tópica dos compostos inseticidas. Somente foi verificado mortalidade larval acima de 50% para os três fosforamídatos testados, a partir de 168 horas da exposição aos mesmos, o que indica, de forma predominante, efeito colinérgico agudo, diferente do tratamento com o composto comercial Acephato, que apresentou mortalidade larval de 93,99%, já após 12 horas de sua aplicação tópica. O tratamento controle nulo, sem inseticida foi registrado somente uma morte larval, 312 horas após tratamento.

Comparações de curva de sobrevivência de larvas de *S. frugiperda* ao longo do tempo depois de efetuado os tratamentos não evidenciaram diferenças significativas entre os tratamentos como os três novos aminoaril-fosforamídicos 1, 2 e 3 (Log-Rank teste, a  $P < 0,001$  e, Teste Holm-Sidak, a  $P < 0,05$ ).

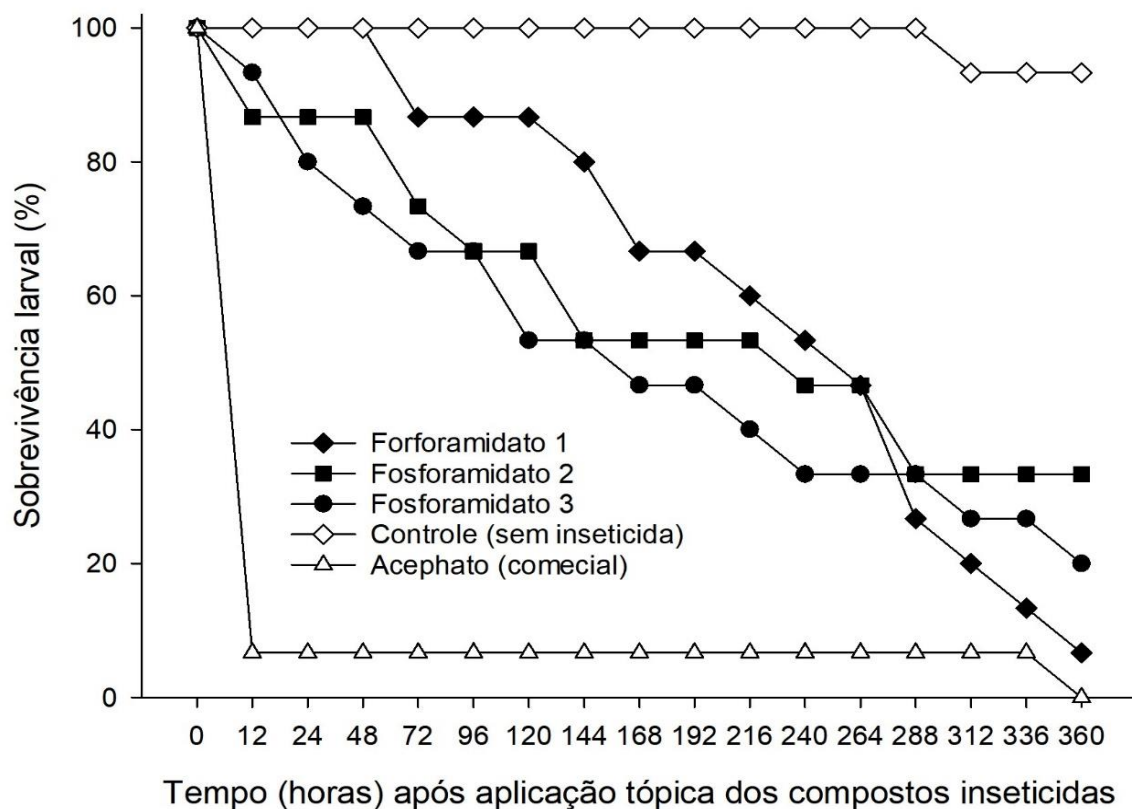


**Figura 5.** Médias de sobrevivência de larvas de *Spodoptera frugiperda* ao longo do tempo, após a aplicação tópica dos três compostos aminoaril-fosforamídicos e Acephato (formulação comercial), na dosagem de 900  $\mu\text{g}$  de cada composto inseticida/larva). Em tratamento controle nulo foi feito somente a aplicação tópica do solvente cetona + água (proporção 6:4). O teste Log-Rank a  $P < 0,001$  destacou diferenças significativas entre os tratamentos. Múltiplas comparações entre os tratamentos pelo teste Holm-Sidak a  $P < 0,001$  não evidenciaram efeito significativo em sobrevivência de vespídeos para os três novos fosforamídeos em teste, que diferiram significativamente dos tratamentos controle (sem inseticida) e do controle positivo (Acephato).

Dados comparativos de toxicidade tóxica aguda ente os novos compostos aminoaril-fosforamídicos e o Acephato (produto comercial) para as operárias adultas de *P. occidentalis*

na concentração 8% (p/v), que equivaleu a 80 µg do produto inseticida/vespídeo são apresentados na tabela 6. Considerando que o peso médio de uma operária adulta equivale, em média a 30 mg, a dose usada, portanto, foi de 2,67 µg/mg de vespídeo). A mortalidade de vespídeo após exposição tópica dos três fosforamidatos testados a curto prazo, até 72 horas foi mais expressiva do que aquela verificada para as larvas de *S. frugiperda*. A mortalidade larval variou de 6,66% a 33,33% e, para vespídeos variou de 58 a 74%; ainda assim, com valores de mortalidade média sempre menor que o tratamento controle positivo (Acephato), em todos os tempos avaliados (12, 24, 48 e 72 horas) (Scott-Knott, a  $p < 0,05$ ) (Tabela 6).

**Tabela 6.** Taxas de mortalidade média (%) de *Polybia occidentalis* submetidas a aplicação tópico dos três novos composto aminoaril-fosforamídicos e, do tratamento controle (Acephato, produto comercial), em distintos tempos. A concentração dos compostos testados foi a de 8%, equivalente à 80 µg do composto inseticida/inseto (= 2,67 µg/mg de inseto).

| Mortalidade aguda média de adultos de vespídeo |          |          |          |          |
|------------------------------------------------|----------|----------|----------|----------|
| (%)                                            |          |          |          |          |
| Tratamento                                     | 12 horas | 24 horas | 48 horas | 72 horas |
| Fosforamidato 1                                | 0 aA     | 22 aA    | 46 aB    | 58 aB    |
| Fosforamidato 2                                | 26 aA    | 54 aB    | 64 aB    | 74 aB    |
| Fosforamidato 3                                | 30 aA    | 42 aA    | 68 aB    | 72 aB    |
| Acephato (comercial)                           | 100 bA   | 100 bA   | 100 bA   | 100 bA   |

Médias de mortalidade larval seguidas de mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem significativamente entre si (Scott-Knott, a  $p < 0,05$ ).

O parâmetro  $DL_{50\%}$  dos três composto aminoaril-fosforamídicos avaliados para *P. occidentalis* não apresentou discrepância como verificado em lagartas de *S. frugiperda*; a variação foi de 60,981 a 74,056  $\mu\text{g}$  de composto inseticida/vespídeo) (figura 6).

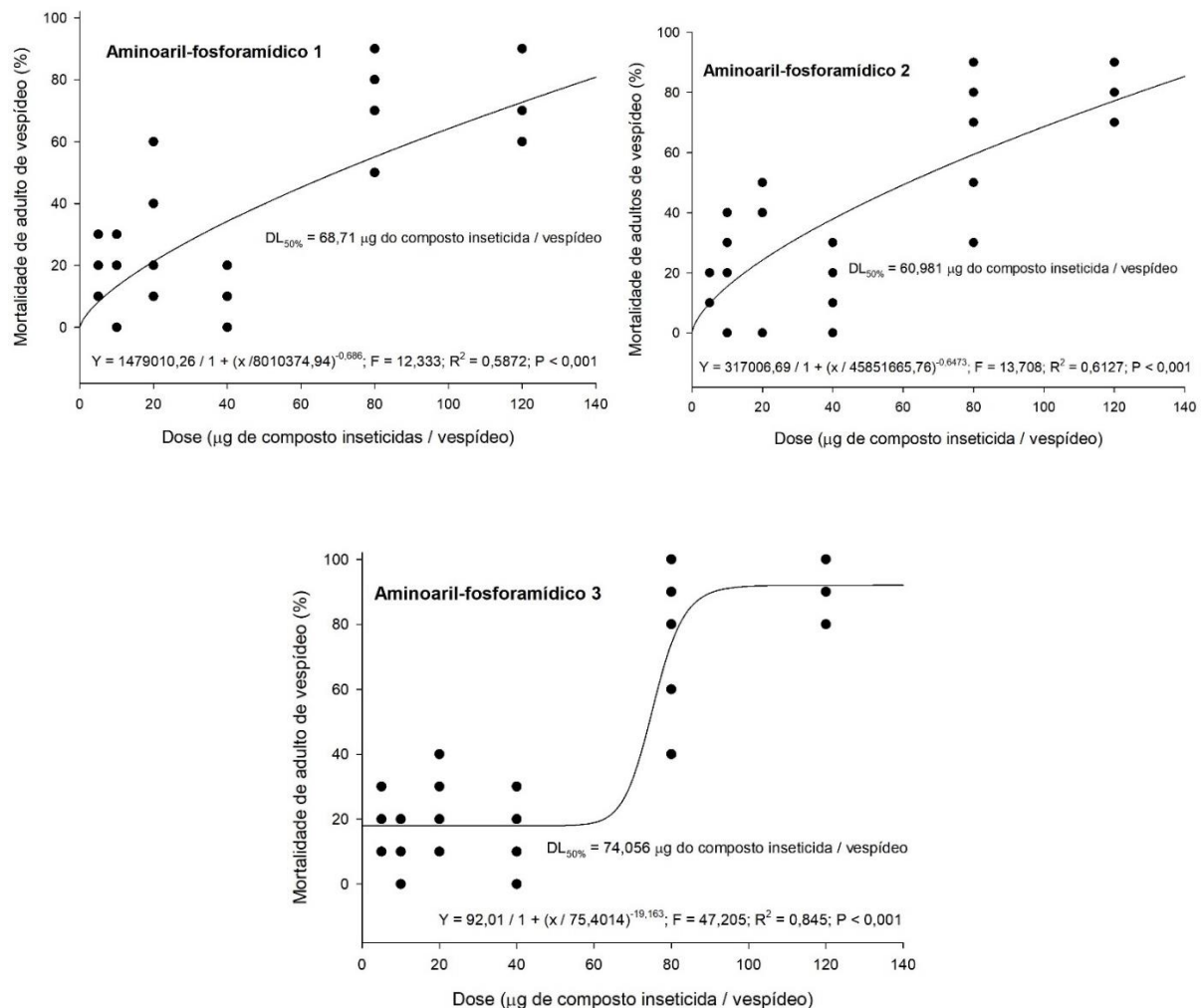


**Figura 6.** Toxicidade dos três compostos aminoaril-fosforamídicos investigados para adultos do vespídeo *Polybia occidentalis*. Os valores de Dose letal (DL) foram estimados usando o modelo de regressão logístico. Mortalidade registrada até 72 horas de aplicação tópica dos compostos inseticidas.

Na figura 7 é apresentado os dados referentes a sobrevivência de operárias de *P. occidentalis* ao longo do tempo após aplicação tópica dos compostos inseticidas. Os compostos aminoaril-fosforamídicos 2 e 3 promoveram mortalidade de operárias de *P. occidentalis* acima de 50% a partir do tempo de 24 horas da exposição tópica. O composto aminoaril-fosforamídico

1, em termos de mortalidade apresentou mortalidade similar a partir de 96 horas; comparações múltiplas de curvas de mortalidade também evidenciaram diferente padrão de mortalidade quando lagartas submetidas ao tratamento com o fosforamidato 1 (teste Log-Rank a  $P < 0,05$  e, método Holm-Sidak, a  $P < 0,001$ ). Após 144 horas da exposição aos inseticidas, os compostos fosforamidatos promoviam mortalidade total de vespídeos. O tratamento controle nulo, sem inseticida não registrou nenhuma morte de operárias até essa data de avaliação.

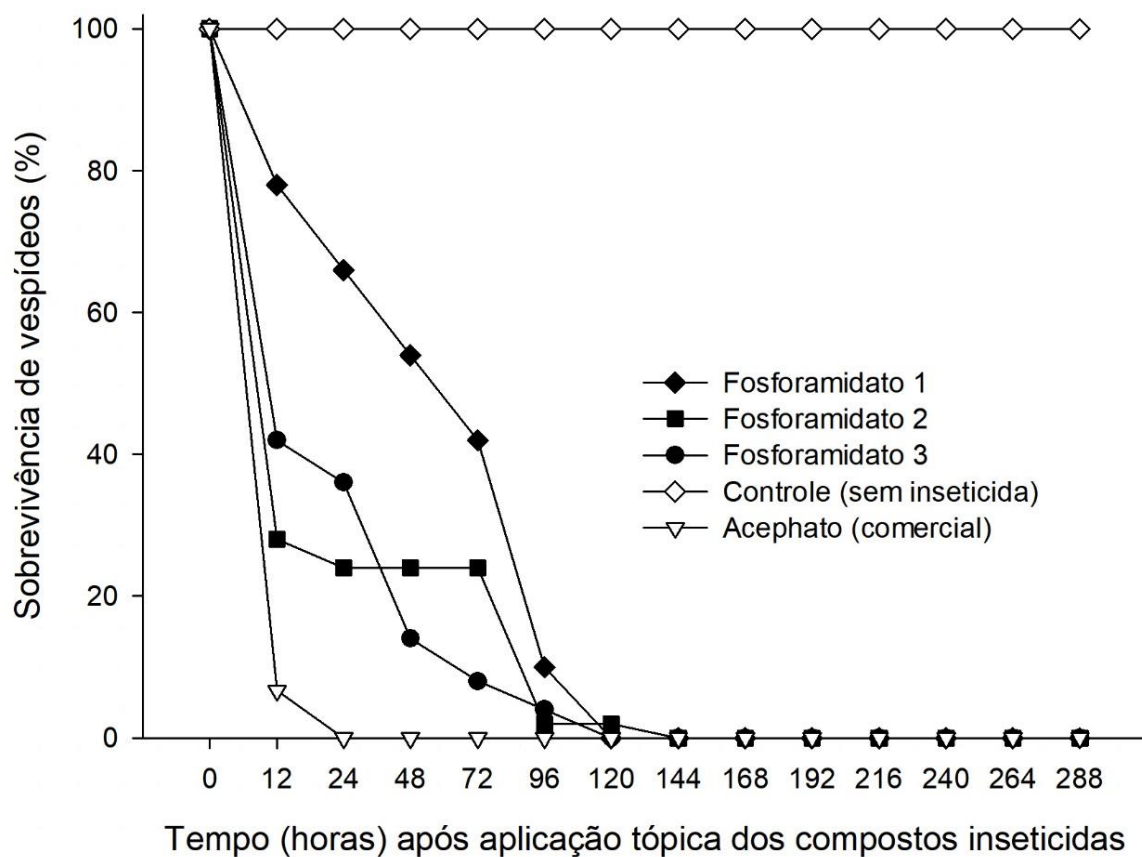


**Figura 7.** Sobrevivência de vespídeos adultos de *Polybia occidentalis* ao longo do tempo, após a aplicação tópica dos três compostos aminoaril-fosforamídicos, na dosagem de 120  $\mu\text{g}$  de cada composto inseticida/vespídeo). O tratamento controle positivo foi realizado com o composto inseticida Acephato, na mesma concentração. O tratamento controle nulo foi feito somente a aplicação tópica do solvente cetona + água (proporção 6:4). O teste Log-Rank a  $P < 0,001$  destacou diferenças significativas entre os tratamentos. Múltiplas comparações entre os tratamentos pelo teste Holm-Sidak ( $P = 0,894$ ) não evidenciaram efeito significativo somente na comparação entre os novos fosforamidatos 2 e 3.

A toxicidade do composto inseticida depende do caráter lipofílico do mesmo, que está associada à espessura e composição lipídica da cutícula do inseto, que afetam a taxa de penetração do mesmo até o alvo de sua ação (GUSMÃO et al., 2000); em nosso estudo, insetos diferentes e estádios de vida diferentes justificariam toxicidades diferentes. Charpentier et al. (2020) investigaram possíveis causas de resistência de população de *Drosophila melanogaster* a inseticidas organofosforados e, além da mobilidade do inseticida, mencionaram mais três causas da resistência, especificamente no alvo acetilcolinesterase: aumento de hidrólise, diminuição da sensibilidade do sítio de ação e, redução da quantidade de acetilcolinesterase. Apesar de nosso trabalho não tratar de investigar resistência à inseticida, tais observações reforçam que variações químicas dos produtos e características morfológicas e fisiológicas do inseto alvo irão influenciar na toxicidade do produto.

## 5. CONCLUSÃO

O efeito agudo dos três novos compostos aminiaril-fosforamídicos para as larvas de *S. frugiperda*, considerado em nosso trabalho até 72 horas da aplicação tópica dos compostos, foi significativamente menor do que aquele observado no tratamento controle positivo (Acephato, o produto comercial); entretanto o efeito agudo desses mesmos fosforamidatos foram mais expressivos no inseto considerado benéfico, o vespídeo *P. occidentalis*, ou seja, uma seletividade não interessante, no caso de eventual uso desses compostos em programas de manejo integrado de pragas.

Nossos resultados sugerem efeito neuropático agudo dos três compostos aminoaril-fosforamídicos, que promoveram significativas taxas de mortalidade de larvas de *S. frugiperda*, quando comparadas com o tratamento controle nulo (sem inseticida); se considerarmos a regra de que o inseticida neurotóxicos devem promover rápida mortalidade da praga, tais compostos fosforamidatos não seriam bons candidatos a serem desenvolvidos em formulações inseticidas comerciais.

Importante destaca-se que esses compostos fosforamidatos sintetizados para este estudo são derivados aminoaril-fosforamídicos de reação final para produção de novas sulfas-fosforamídicas, que estão em fase de execução e, que em trabalhos futuros, também terão suas eventuais propriedades inseticidas avaliadas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADEYINKA, A.; MUCO, E.; PIERRE, L. **Organophosphates**. National Center for Biotechnology Information. U.S. National Library of Medicine: Bethesda, USA 2022. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK499860/>
- BACCI, L.; PICANÇO, M. C.; SILVA, E. M.; SEMEÃO, A. A.; CASTRO, A. A. **Seletividade de inseticidas a *Polybia* sp. (Hymenoptera: Vespidae), predador do bicho-mineiro do cafeeiro**. Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil, Poços de Caldas, MG. Embrapa Café, Belo Horizonte, 2000. Disponível em: [http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb\\_anais/simposio1/Pragas26.pdf](http://www.sapc.embrapa.br/arquivos/consorcio/spcb_anais/simposio1/Pragas26.pdf)
- BARBOSA, L. D.; JACQUES, G. C.; SOUZA, M. M. Vespas sociais (Vespidae, Polistinae) em agrossistema do Cerrado no estado de Minas Gerais, sudeste do Brasil. **Revista Agrogeoambiental**, v.14, e20221717, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.18406/2316-1817v14n120221717>
- CASIDA, J. E.; DURKIN, K. A. Anticholinesterase insecticide retrospective. **Chemico-Biological Interactions**, v. 203, n. 1, p. 221–225, 2013. Disponível em: <http://doi.org/10.1016/j.cbi.2912.08.002>
- CHARPENTIER, A.; MENOZZI, P., MARCEL, V., VILLATTE, F.; FOURNIER, D. A Method to estimate acetylcholinesterase-active sites and turnover in insects. **Analytical Biochemistry**, v. 285, p. 76-81, 2000. Disponível em: doi:10.1006/abio.2000.4738
- GONÇALVES, G. S.; CARDOSO, R. S.; OLIVEIRA, W. S. A; CESSA, R. M. A.; MELO, E. P. Eficiência de inseticidas no controle de *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) alimentadas com folhas de milho, feijão, soja e sorgo. **Enciclopédia Biosfera**, v.13, n.23, p. 549 - 559, 2016. Disponível em:

<https://conhecer.org.br/ojs/index.php/biosfera/article/view/1218>

GUEDES, R. C. N.; SMAGGHE, G.; STARK, J. D.; DESNEUX, N. Pesticide-induced stress in arthropod pests fo optimized integrated pest management programs. **Annual Review Entomology**, v.61, 43-62, 2016. Disponível em: <https://doi.org/10.1146/annurev-ento-010715-023646>

GUSMÃO, M. R.; PICANÇO, M.; GONRING, A. H. R.; MOURA, M. F. Seletividade fisiológica de inseticidas a Vespidae predadores do bicho-mineiro-do-cafeeiro. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n. 4, p. 681-686, 2000. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000400002>

HUDSON, H. R.; MAVRMATIS, C. N.; PIANKA, M. Organophosphorus compounds as potential fungicides. part v. The preparation and properties of some novel N, N, N', N'-tetramethyl-N''-(1-substituted-2,2,2-trichloroethyl) phosphoric triamides. **Phophorous, Sulfur Silicon and the Related Elements**, v. 108, p. 141-153, 1996. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10426509608029647>

JACQUES, G. C.; PIKART, T. G.; SANTOS, V. S.; VICENTE, L. O.; SILVEIRA, L. C. P. Niche overlap and daily activity pattern of social wasps (Vespidae: Polistinae) in kale crops. **Sociobiology**, 65, n. 2, p. 312-319, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.13102/sociobiology.v65i2.2670>

KÖHLER, A.; LEMES, J. R. A. *Polybia Lepeletier* (Hymenoptera: Vespidae: Polistinae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Caderno de Pesquisa, Série Biologia**, v. 26, v. 2, p. 52-64, 2014. Disponível em: <https://doi.org/10.17058/cp.v26i2.5250>

LAGES, E. B. **Síntese de novos fosforamidatos derivados de bases de Schiff**. Dissertação de

Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Moleculares da Universidade Estadual de Goiás. 2016. Disponível em: [https://www.bdttd.ueg.br/bitstream/tede/284/2/Eduardo\\_Burgarelli\\_Lages.pdf](https://www.bdttd.ueg.br/bitstream/tede/284/2/Eduardo_Burgarelli_Lages.pdf)

MASCARENHAS, T. S. D. **A síntese das inéditas bases de Schiff fosforamídicas. Dissertação de Mestrado.** Programa de Pós-Graduação *Stricto Sensu* em Ciências Moleculares, Universidade Estadual de Goiás, Anápolis, 2022.

MOREIRA, M. F.; MANSUR, J. F.; FIGUEIRA-MANSUR,; **Resistência e Inseticidas: Estratégias, Desafios e Perspectivas no Controle de Insetos.** Tópicos Avançados em Entomologia Molecular Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Entomologia Molecular - INCT - EM - 2012. Cap 15, 132p.

MONTEZANO, D. G.; SOSA-GOMEZ, D. R.; SPECHT, A.; ROQUE-SPECHT, V.F.; SOUSA-SILVA, J.C.; PAULA-MORAES, S.D.; PETERSON, J. A.; HUNT, T. E. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. **African Entomology**, v. 26, n. 2, p. 286-300, 2018. <https://doi.org/10.4001/003.026.0286>

MOTA, T. F. M.; OLIVEIRA; W. L.; GONÇALVES, S.; VASCONCELOS, M. W., MIGLIORANZA, K. S. B., GHISI, N. C. Are the issues involving acephate already resolved? A scientometric review. **Environmental Research**, v. 237, p. 117034, 2023.

O'MALLEY, G. F.; O'MALLEY, R. **Intoxicação por organofosfarados e carbamatos.** 2024. Disponível em: <https://www.msdmanuals.com/pt-br/profissional/les%C3%B5es-intoxica%C3%A7%C3%A3o/intoxica%C3%A7%C3%A3o/intoxica%C3%A7%C3%A3o-por-organofosfarados-e-carbamatos>. Acessado em: 11/06/2024.

OLIVEIRA, F. M. **Síntese e avaliação da atividade inseticida de novos fosforamidatos.**

Dissertação de Mestrado. Programa de Mestrado em Agroquímica da Universidade Federal de Viçosa. 2008. Disponível em: <https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/2142/1/texto%20completo.pdf>

OLIVEIRA, F. M.; BARBOSA, L. C.; ISMAIL, F. V. The Diverse Pharmacology and Medicinal Chemistry of Phosphoramidates - a review. **RSC Advances**, v. 1, s.p., 2014. Disponível em: <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2014/ra/c4ra01454e>

PAULA, V. F.; BARBOSA, L. C. A., TEIXEIRA, R. R.; PICANÇO, M. C.; SILVA, G. A. Synthesis and insecticidal activity of new 3-benzylfuran-2-yl *N,N,N',N'*-tetraethyl diamidophosphate derivatives. **Pest Management Science**, v. 64, p. 863-872, 2008.

PICANÇO, M. C.; OLIVEIRA, I. R.; ROSADO, J. F.; SILVA, F. M.; GONTIJO, P. C.; SILVA, R.S. Natural Biological control of *Ascia monuste* by the Social Wasp *Polybia ignobilis* (Hymenoptera: Vespidae). **Sociobiology**, v. 56, n. 1, p. 67-76, 2010. Disponível em: [https://www.researchgate.net/publication/260311671\\_Natural\\_Biological\\_Control\\_of\\_Ascia\\_monuste\\_by\\_the\\_Social\\_Wasp\\_Polybia\\_ignobilis\\_Hymenoptera\\_Vespidae](https://www.researchgate.net/publication/260311671_Natural_Biological_Control_of_Ascia_monuste_by_the_Social_Wasp_Polybia_ignobilis_Hymenoptera_Vespidae)

PINTO, J. R. L.; TORRES, A. F.; TRUZI, C. C.; VIEIRA, N. F.; VACARI, A. M.; DE BORTOLI, S. A. Artificial corn-based diet for rearing *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Insect Science**, v. 19, n. 4, p. 1-8, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1093/jisesa/iez052>

PPDB - **Pesticide properties database**, 2023. Acephate. Disponível em: <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/ppdb/en/Reports/9.htm>. Acesso em 10/06/2024.

PRETSCH, E., BÜHLMANN, P.; BADERTSCHER, M. Structure determination of organic

compounds: tables of spectral data. Springer Berlin Heidelberg, 2020, 478 p.

PREZOTO, F.; SANTOS-PREZOTO, H. H.; MACHADO, V. L. L.; ZANUNCIO, J. C. Prey Captured and Used in *Polistes versicolor* (Olivier) (Hymenoptera: Vespidae) Nourishment. **Neotropical Entomology**, v. 35, n. 5, p. 707-709, 2006. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/ne/a/Z7fydsy69whyH8BhpmMv3Bf/?lang=en&format=pdf>

R CORE TEAM. **R**: a language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. 2022. Disponível em: <http://www.R-project.org/>.

RESENDE, J. J.; SANTOS, G. M. M.; BICHARA FILHO, C. C.; GIMENES, M. Atividade diária de busca de recursos pela vespa social *Polybia occidentalis occidentalis* (Olivier, 1791) (Hymenoptera, Vespidae). **Revista Brasileira de Zoociências**, v. 3, n. 1, 105-115, 2001. Disponível em: <https://periodicos.ufjf.br/index.php/zoociencias/issue/view/1159>

RICHARDSON, R. J.; MAKHAEVA, G. F. Organophosphorus compounds. (pp. 114-119). In: WEXLER, P. (Ed.) The encyclopedia of toxicology 3. ed. Elsevier Inc., Academic Press, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00173-1>

SANTOS, J. A. T.; SELEGHIM, M. R.; NERILO, S. B.; FERNANDEZ, L. S.; OLIVEIRA, M. L. F. Inseticidas organofosforados e intoxicação humana: uma revisão da produção científica sobre o tema. **Revista Saúde e Biologia**, v. 10, n. 2, p.54-65, 2015. Disponível em: <https://revista2.grupointegrado.br/revista/index.php/sabios/article/view/1053/708>

SANTOS, V. M. R.; DONNICI, C. L.; J. B. N. COSTA, J. B. N.; CAIXEIRO. J. M. R. Compostos organofosforados pentavalentes: histórico, métodos sintéticos de preparação

e aplicações como inseticidas e agentes antitumorais. **Química Nova**, v. 30, p. 159-170, 2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000100028>

SIBBR, 2023. **Catálogo taxonômico da fauna do Brasil e lista da flora do Brasil 2020**. Disponível em: <https://ala-bie.sibbr.gov.br/ala-bie/species/245945>

SOMAVILLA, A.; OLIVEIRA, M. L.; SILVEIRA, O. T. Guia de identificação dos ninhos de vespas sociais (Hymenoptera, Vespidae, Polistinae) na Reserva Ducke, Manaus, Amazonas, Brasil. **Revista Brasileira de Entomologia**, v. 56, n. 4, 405-414, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/rbent/a/ydFg7QYNVKV4wdjLBVL8QWR/?format=pdf&lang=pt>

SOUZA, M. M.; ZANUNCIO, J. C. **Marimbondos: vespas sociais: (Hymenoptera: Vespidae)**. Viçosa, UFV, 2012, 79p.

WAN, J; HUANG, C.; LI, C. Y.; ZHOU, H. X.; REN, Y. L.; LI, Z. Y.; XING, L. S.; ZHANG, B.; QIAO, X.; LIU, B.; LIU, C.H.; XI, Y.; LIU, W.X.; WANG, W. K.; QIAN, W. Q.; MCKIRDY, S.; WAN, F.H. Biology, invasion and management of the agricultural invader: Fallarmyworm, *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). **Journal of Integrative Agriculture**, v. 20, p. 646-663, 2021. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(20\)63367-6](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(20)63367-6)

WARE, G. W. **The pesticide book**. 5. Ed. Thomson Publications: Fresno, USA, 2000.

WILD, S. 2017. African countries mobilize to battle invasive caterpillar. **Nature**, v. 543, p. 13-14, 2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1038/nature.2017.21527>

ZHANG, W.; KATO, E.; BIANCHI, F.; BHANDARY, P.; GORT, G.; VAN DER WERF, W.

Farmers' perceptions of crop pest severity in Nigeria are associated with landscape, agronomic and socio-economic factors. **Agriculture, Ecosystems and Environment**, v. 259, p. 159-167, 2018. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.agee.2018.03.004>

ZHU, Q.; CHE, S.; LUO, Z.; ZHAO, Z. Ligand-free copper-catalyzed denitrogenative arylation of phosphorylamides with arylhydrazines. **Synthetic Communications**, v.1, p.1-110, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/00397911.2020.1725577>