

TOXICIDADE DE ÓLEO DE NIM PARA PUPAS E ADULTOS DE *CHRYSOPERLA EXTERNA* (HAGEN) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE)

L.V. Cosme, G.A. Carvalho, A.P. Moura, D.S. Parreira

Kansas State University, Department of Entomology, Insect Physiology Laboratory, 123 Waters Hall, Manhattan, KS 66504, USA. E-mail: cosme@ksu.edu

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi avaliar os efeitos do Nim-I-Go[®] sobre pupas e adultos de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). As concentrações (%) do Nim-I-Go[®] utilizadas no experimento com pupas foram as seguintes: 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0; correspondendo a (mg de azadirachtina/L de água) 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L e 50 mg/L, respectivamente. No experimento com adultos foram utilizadas as seguintes concentrações: 0,25; 0,5; 0,75; 1,0 e 2,0; correspondendo a (mg de azadirachtina/L) 2,5 mg/L, 5,0 mg/L, 7,5 mg/L, 10 mg/L e 20 mg/L, respectivamente. Clorpirifós foi utilizado como testemunha negativa (0,48 g i.a./L) nos dois experimentos e água como testemunha positiva. Os bioensaios foram conduzidos a 25 ± 2°C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas. As pulverizações foram realizadas por meio de torre de Potter com aplicação de 1,5 ± 0,5 mg de calda química/cm². Avaliaram-se a viabilidade dos ovos, a sobrevivência de pupas e adultos e o efeito dos inseticidas sobre a capacidade reprodutiva dos indivíduos. A toxicidade foi calculada em função do efeito total (E), conforme metodologia padrão estabelecida pela "IOBC". Nim-I-Go[®] nas diversas concentrações foi inócuo a pupas e adultos do predador. Clorpirifós foi nocivo para pupas e adultos de *C. externa*.

PALAVRAS-CHAVE: Crisopídeo, controle químico, azadirachtina, seletividade, controle biológico.

ABSTRACT

NEEM OIL TOXICITY TO *CHRYSOPERLA EXTERNA* (HAGEN) (NEUROPTERA: CHRYSOPIDAE) PUPAE AND ADULTS. The objective of this work was to evaluate the effects of Nim-I-GoTM on pupae and adults of *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). The neem-based insecticide Nim-I-GoTM was used in the following concentrations (%) in the pupae trial: 0.5; 1.0; 2.0 and 5.0; equivalent to (in mg of azadirachtin/L of water) 5 mg/L, 10 mg/L, 20 mg/L and 50 mg/L, respectively. In the larvae trial the following concentrations were used: 0.25; 0.5; 0.75; 1.0 and 2.0; equivalent to (in mg of azadirachtin/L) 2.5 mg/L, 5.0 mg/L, 7.5 mg/L, 10 mg/L and 20 mg/L, respectively. Chlorpyrifos was used as a negative control (0.48 g a.i./L) in both trials, and water as a positive control. The bioassays were carried out at 25 ± 2°C, RH of 70 ± 10%, and 12-h of photophase. The sprayings were carried out using a Potter's tower, ensuring the application of 1.5 ± 0.5 mg/cm². Survival of pupae and adults, and the effects of the insecticides on the reproductive capacity of this predator were evaluated. The total toxic effect (E) of the insecticides was calculated according to the standard methodology established by IOBC. Nim-I-GoTM was harmless to pupae and adults of *C. externa*. Chlorpyrifos was harmful to this natural enemy.

KEY WORDS: Green-lacewing, chemical control, azadirachtin, selectivity, biological control.

INTRODUÇÃO

A preservação e manutenção de Inimigos Naturais (INs) nos agroecossistemas são imprescindíveis para o estabelecimento do controle biológico natural, evitando-se efeitos indesejáveis como seleção de populações de insetos-praga resistentes aos agrotóxicos, aparecimento de pragas secundárias e ressurgência de pragas. Permite redução na depen-

dência de pesticidas, acarretando menor contaminação do solo, água, fauna e do próprio homem, além da diminuição dos custos de produção (GRAVENA, 2003). Deve-se salientar que dentro da filosofia do Manejo Integrado de Pragas (MIP), o uso de agrotóxicos somente deve ser feito quando eles apresentarem algum tipo de seletividade (REIS, 1996; HASSAN, 1997; MEDINA *et al.*, 2001; MEDINA *et al.*, 2003).

O predador *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) é um inseto polígrafo e comumente encontrado em diversas culturas, sendo amplamente relacionado ao controle biológico natural e um importante predador de ácaros, afídeos e ovos de lepidópteros (GODOY *et al.*, 2004; SILVA *et al.*, 2005). No entanto, um grande entrave no uso desse e de outros inimigos naturais no controle biológico natural e aplicado ainda diz respeito à ampla utilização de pesticidas, quer sejam sintéticos ou naturais.

Estudos realizados com o óleo de nim demonstraram que este produto pode ser eficaz para o controle de um grande número de insetos, principalmente pulgões (TANG *et al.*, 2002). Porém, pesquisas acerca do impacto dessa substância sobre crisopídeos são ainda escassas no Brasil, sendo desconhecidos, inclusive, os efeitos do produto sobre as diversas fases do desenvolvimento desse inimigo natural.

Desta forma, a compatibilização do uso do óleo de nim e de crisopídeos no manejo de pragas surge como uma estratégia viável no contexto de agricultura sustentável, necessitando, porém, do desenvolvimento de pesquisas para estudar tal associação. Assim, o presente trabalho teve como objetivo avaliar os efeitos do Nim-I-Go[®], um inseticida natural à base do óleo de nim e de clorpirifós sobre pupas e adultos de *C. externa*, em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram mantidos a 25 ± 2 °C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas em sala climatizada.

Efeito do Nim-I-Go[®] sobre pupas de *C. externa*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 5 repetições, sendo cada parcela experimental constituída de oito pupas do predador. Pupas do predador (< 24h de idade) receberam a aplicação de Nim-I-Go[®] nas concentrações de 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0% e de clorpirifós (0,48 g i.a./L). As pulverizações foram realizadas por meio de torre de Potter com aplicação de $1,5 \pm 0,5$ mg de calda química/cm². Duas horas após a aplicação as pupas foram transferidas para tubos de vidro (2,0 cm de diâmetro x 8,0 cm de altura). Os parâmetros biológicos avaliados foram a viabilidade e duração dessa fase de desenvolvimento.

Os adultos obtidos de pupas tratadas foram sexados e agrupados em casais, sendo colocados em gaiolas de PVC (10 cm de diâmetro x 10 cm de altura), sendo um casal por gaiola, totalizando 12 casais por tratamento. Cada gaiola foi revestida internamente com papel-filtro, tendo a sua extremidade superior fechada com tecido tipo "voil", sendo a sua base apoiada em bandeja plástica forrada com papel-filtro. Os adultos receberam a cada dois dias água e dieta artificial composta de

lêvedo de cerveja e mel (1:1). Esta dieta foi pincelada em material poroso (esponja), fixado nas extremidades de frascos de vidro de 8 mL, preenchido com água destilada, sendo o conjunto colocado na parte superior de cada gaiola. A cada dois dias, 100 ovos eram retirados de cada gaiola e colocados em compartimentos de placas de teste ELISA, para avaliar a sua viabilidade. As avaliações foram realizadas durante quatro semanas após a pré-oviposição. Foram avaliados o período de pré-oviposição, a oviposição diária de cada fêmea e a viabilidade dos ovos.

Efeito do Nim-I-Go[®] sobre adultos de *C. externa*. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, com 7 tratamentos e 10 repetições, sendo cada parcela experimental constituída de um casal do predador. Adultos (< 24h de idade) foram anestesiados com CO₂ durante aproximadamente um minuto, colocados em placas de Petri de 15 cm de diâmetro para receberem os compostos via aplicação em torre de Potter. Após a aplicação, cada casal foi individualizado em gaiola de PVC (10 cm de diâmetro x 10 cm de altura). Deste ponto em diante, este experimento foi conduzido da mesma forma do experimento anterior, sendo realizadas avaliações semelhantes.

Os produtos foram enquadrados nas classes de toxicidade da IOBC (HASSAN; DEGRANDE, 1996).

Microscopia eletrônica de varredura (MEV). Foram realizadas micrografias eletrônicas de varreduras em casulos de pupas de *C. externa* para localizar possíveis orifícios micrométricos por onde o inseto respira e pelos quais os produtos poderiam penetrar.

A preparação e observação das amostras em microscópio eletrônico de varredura foram realizadas no Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise UltraEs-trutural (LME) do Departamento de Fitopatologia da Universidade Federal de Lavras, MG. Pupas de *C. externa*, da criação de manutenção do Laboratório de Biologia dos Insetos da UFLA, constituiram as amostras para MEV. Depois de retiradas da criação, foram imersas em solução fixativa (Karnovisk modificado), pH 7,2 por um período de 24h. Em seguida, as amostras foram transferidas para uma solução de tetróxido de ósmio 1% em água por 1h e subsequentemente desidratadas em uma série de acetona (30, 50, 70, 90 e 100% por três vezes) e depois levadas para o aparelho de ponto crítico (BAL-TEC CPD O30). Os espécimes obtidos foram montados em suportes de alumínio *stubs*, com o auxílio de uma fita de carbono dupla face colocada sobre uma película de papel alumínio, cobertos com ouro em evaporador (BAL-TEC SCD 050) e observados em microscópio eletrônico de varredura LEO EVO 40XVP. Foram geradas e registradas digitalmente, a aumentos variáveis, diversas imagens para cada amostra, nas condições de trabalho de 20 Kv e distância de trabalho de 9 mm.

RESULTADOS

Efeitos dos produtos sobre pupas. A viabilidade e a duração do estágio de pupa foram afetadas pelo clorpirifós (Figs. 1 e 2). Em função da grande mortalidade na fase de pupa no tratamento com este produto não foi possível montar os casais no estágio adulto e avaliar os demais parâmetros. O óleo de nim em todas as concentrações testadas não afetou negativamente a viabilidade e duração do estágio de pupa, período de pré-oviposição e oviposição diária de *C. externa* (Figs. 1 e 2).

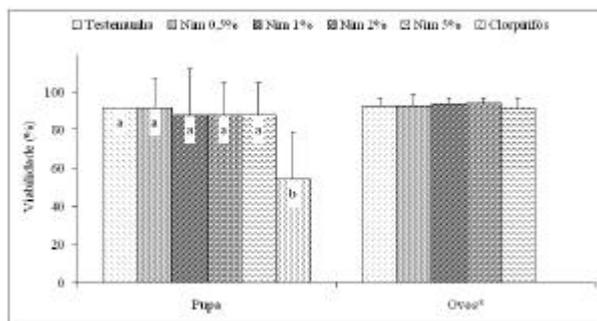
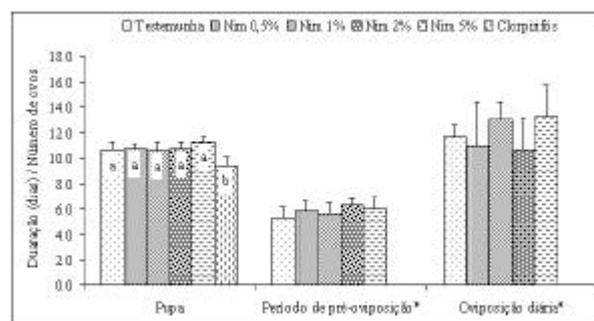
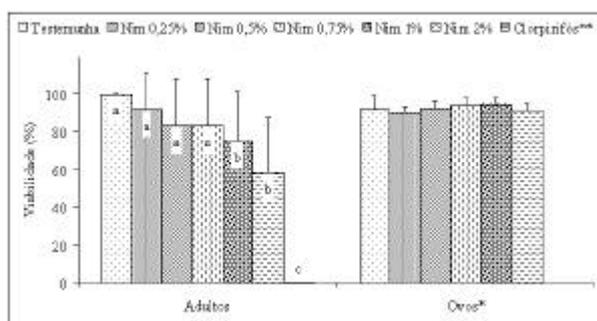


Fig. 1 - Resultados dos parâmetros biológicos avaliados de *Chrysoperla externa* (\pm EP) quando pupas foram tratadas.*Médias não diferiram entre si pelo teste F. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).

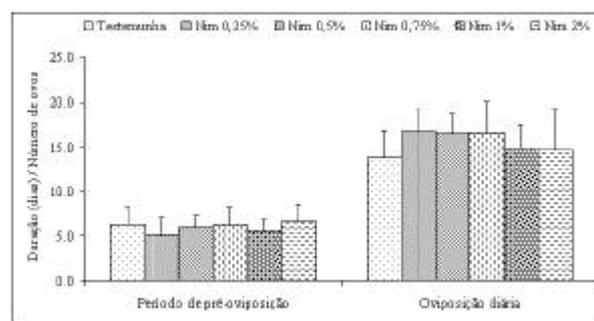
Efeitos dos produtos sobre adultos. O inseticida clorpirifós provocou a morte de todos os insetos logo após a aplicação (Fig. 3). Por outro lado, óleo de nim a 1 e 2% também provocou mortalidade significativa ao longo do tempo. Como todos os insetos no tratamento com clorpirifós morreram instantaneamente após a aplicação, não foi possível avaliar o efeito na reprodução dessa espécie. Com relação ao óleo de nim, o período de pré-oviposição e a oviposição diária não foram afetados por nenhuma concentração, assim como a viabilidade dos ovos (Figs. 3 e 4).



Figs. 2 - Resultados dos parâmetros biológicos avaliados de *Chrysoperla externa* (\pm EP) quando pupas foram tratadas.*Médias não diferiram entre si pelo teste F. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$).



Figs. 3 - Resultados dos parâmetros biológicos avaliados de *Chrysoperla externa* (\pm EP) quando adultos foram tratados.*Médias não diferiram entre si pelo teste F. Médias seguidas pelas mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott ($P < 0,05$). **Todos os insetos morreram após aplicação.



Figs. 4 - Resultados dos parâmetros avaliados de *Chrysoperla externa* (\pm EP) quando adultos foram tratados.*Médias não diferiram entre si pelo teste F ($P < 0,05$).

Tabela 1 - Classes de toxicidade dos tratamentos para *Chrysoperla externa*, em função do Efeito Total (E) (%), em testes de laboratório.

Tratamentos	Pupas		Tratamentos	Adultos	
	E	Classe ¹		E	Classe ¹
Nim 0,5%	0,00	1	Nim 0,25%	0,00	1
Nim 1%	0,00	1	Nim 0,5%	0,00	1
Nim 2%	0,00	1	Nim 0,75%	0,00	1
Nim 5%	12,01	1	Nim 1%	0,00	1
Clorpirifós	100,00	4	Nim 2%	28,94	1
			Clorpirifós	100,00	4

¹Classe de toxicidade segundo HASSAN; DEGRANDE (1996). 1. Inócuo; 2. Levemente nocivo; 3. Moderadamente nocivo; 4. Nocivo.

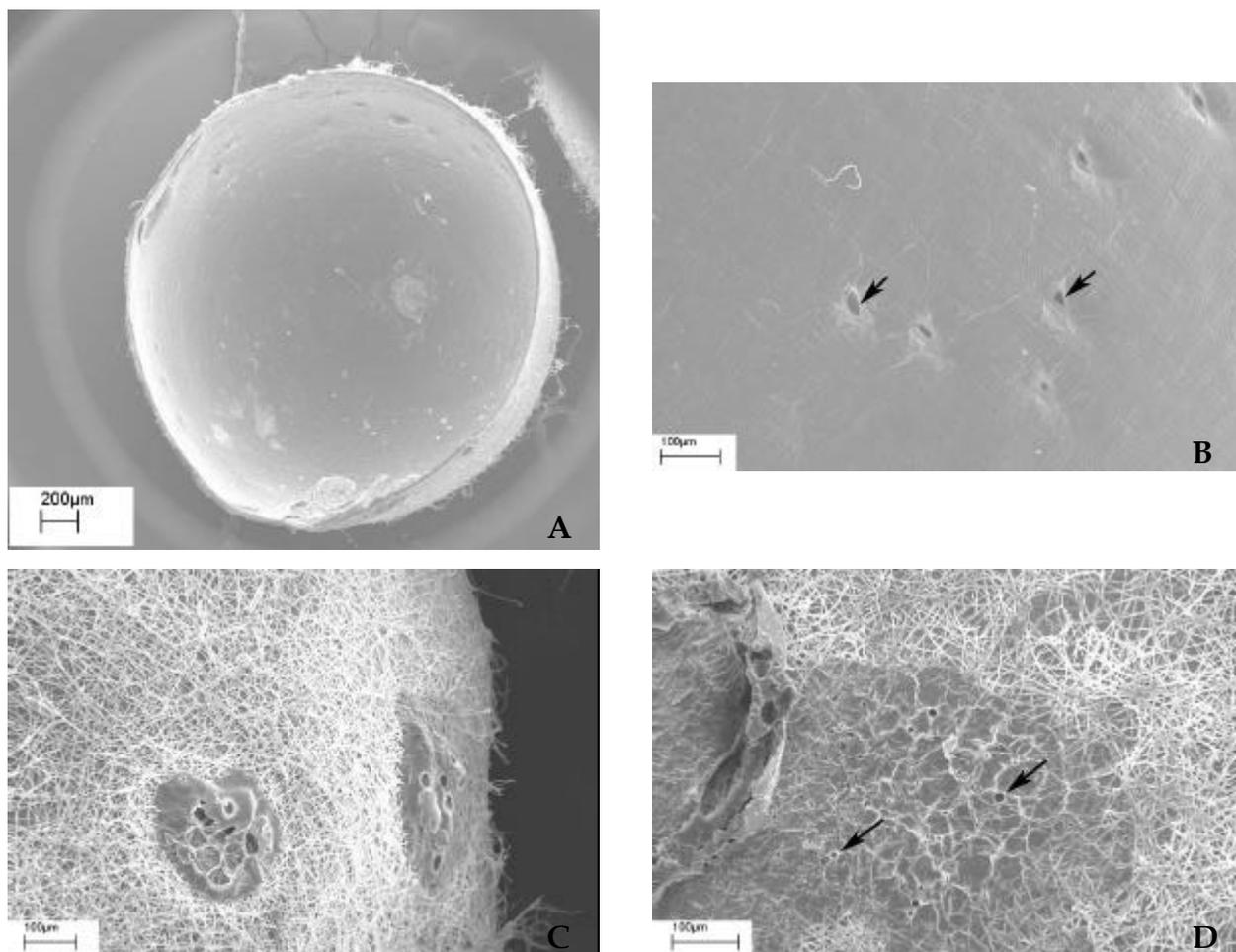


Fig. 5 - Micrografias eletrônicas de varredura do casulo de seda da pupa de *Chrysoperla externa*. A. Pupa; B. Orifícios vistos internamente (setas); C. Locais dos orifícios externamente; D. Orifícios vistos externamente (setas).

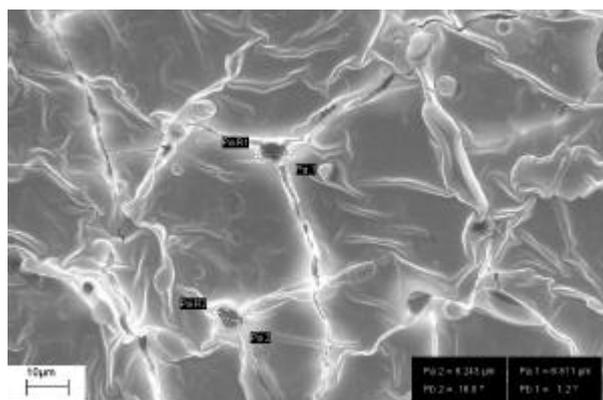


Fig. 6 - Micrografia eletrônica de varredura do casulo de seda da pupa de *Chrysoperla externa*. Orifícios com cerca de 6 µm de diâmetro conectam lado externo e interno.

O óleo de nim foi classificado de acordo com as classes toxicológicas da IOBC como sendo inócua às pupas e adultos do predador, em todas as concentrações testadas. Já o clorpirifós foi enquadrado como nocivo para ambos estádios de desenvolvimento, com efeito total igual a 100% (Tabela 1).

O casulo de seda da pupa de *C. externa* apresenta diversos orifícios ao longo de toda sua superfície. Esses orifícios, com diâmetro em torno de 6 µm, atravessam o casulo que foi construído pela larva, permitindo que o inseto respire durante a fase de pupa (Figs. 5 e 6).

DISCUSSÃO

A mortalidade provocada pelo nim 2% quando aplicado em adultos pode ser atribuída ao efeito fagodeterrente da azadirachtina ou então à formulação oleosa do produto utilizado. MEDINA *et al.* (2004) observaram que uma formulação emulsionável comercializada na Europa foi inócua a adultos de *Chrysoperla carnea* (Stephen). Os efeitos da formulação podem ser os responsáveis pelo maior ou menor poder inseticida de um determinado produto à base de nim. Assim, formulações emulsionáveis parecem ser menos tóxicas a adultos de crisopídeos do que as oleosas.

Para avaliar a influência da azadirachtina na

reprodução de adultos de *C. carnea*, MEDINA *et al.* (2004) utilizaram três métodos de exposição dos insetos ao produto à base de nim: residual, contato e ingestão. O produto utilizado (Align®) foi inócuo aos adultos independente do método de exposição. Entretanto, a oviposição das fêmeas foi reduzida de forma reversível quando o método de exposição foi por ingestão. Também verificaram que a fertilidade não foi afetada. Em testes adicionais observaram que os machos não estão envolvidos na redução da oviposição, demonstrando que a azadirachtina age no ovário das fêmeas. Em estudo ultraestrutural realizado nos ovários de fêmeas tratadas, constataram que azadirachtina interfere na síntese vitelogenina e/ou absorção de vitelogenina pelos oócitos em desenvolvimento. Também verificaram que os folículos de fêmeas tratadas eram menores do que os de fêmeas não tratadas. Neste trabalho não foi verificada a redução na oviposição diária de *C. externa*, quando adultos foram tratados. Isto pode ter ocorrido uma vez que os produtos comerciais utilizados nos trabalhos apresentam concentrações diferentes de azadirachtina e também formulações diferentes.

Em outro trabalho realizado por MEDINA *et al.* (2001), azadirachtina mostrou-se inofensiva para adultos de *C. carnea*. Neste trabalho também se verificou que o óleo de nim foi inócuo para pupas de *C. externa*.

Em *C. carnea* o controle da produção de vitelogenina no corpo gorduroso, assim como a absorção dessa substância pelos oócitos no ovário, é controlado pelo hormônio juvenil (ROUSSET, 1984), o que provavelmente também deve ocorrer em *C. externa*. Já foi demonstrado que a azadirachtina inibe a produção de vitelogenina e a vitelogênese em *Labidura riparia* (Dermaptera: Labiduridae) pela redução de produção de hormônio juvenil nos corpora allata (SAYAH *et al.*, 1994; SAYAH *et al.*, 1995; SAYAH *et al.*, 1996; SAYAH *et al.*, 1998; SAYAH, 2002). Neste inseto o controle da produção da vitelogenina e vitelogênese é pelo hormônio juvenil. As aplicações do óleo de nim realizadas neste trabalho foram feitas logo após a emergência dos adultos. Desta forma, os insetos foram expostos uma única vez ao produto e, provavelmente, a quantidade absorvida foi insuficiente para inibir a produção de hormônio juvenil nos corpora allata. MEDINA *et al.* (2003) estudaram a absorção de inseticidas reguladores de crescimento por larvas de *C. carnea* e verificaram após 96 horas que a penetração variou bastante entre os produtos testados. A maior penetração ocorreu com o inseticida piropoxifen, onde 98% do produto penetrou nas primeiras 24 horas. Por outro lado, após 96 horas, apenas 45% de tebufenozide aplicado tinha sido absorvido. Assim, o produto utilizado nesta pesquisa deve ter uma baixa taxa de penetração na cutícula dos adultos de *C. externa*, o que

é desejável, uma vez que se busca a preservação desse inseto visando ao controle biológico natural.

Não há muitos estudos com produtos organofosforados em crisopídeos, talvez em função das altas mortalidades provocadas por eles logo após a aplicação. Os efeitos nocivos de clorpirifós foram registrados para os coccinelídeos predadores *Cycloneda sanguinea* L. (Coleoptera: Coccinellidae) e *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae) Germar e para parasitóides *Aphidius* spp. (Hemiptera: Aphididae). Este produto foi classificado como altamente tóxico aos três inimigos naturais (LHAMBY; BACALTCHUK, 2007), assemelhando-se aos resultados constatados no presente trabalho, sendo que clorpirifós matou os adultos em poucos minutos após a sua aplicação. Quando aplicado em pupas, não houve a emergência de nenhum adulto, demonstrando que o produto penetrou nos pequenos orifícios presentes no casulo de seda que é construído pelo inseto no momento de pupação (Figs. 5 e 6). Acredita-se que mesmo pequenas quantidades que tenham penetrado possam ter sido suficientes para matar as pupas. Por outro lado, o óleo de nim, por penetrar menos em função de sua formulação e pela menor toxicidade em relação ao clorpirifós, não causou a morte das pupas.

CONCLUSÕES

O óleo de nim (Nim-I-Go®) nas concentrações 0,5; 1,0; 2,0 e 5,0% é inócuo para pupas e adultos de *C. externa*.

O clorpirifós é nocivo para pupas e adultos de *C. externa*.

REFERÊNCIAS

- GODOY, M.S.; CARVALHO, G.A.; MORAES, J.C.; GOUSSAIN JÚNIOR, M.; MORAIS, A.A.; COSME, L.V. Seletividade de inseticidas utilizados na cultura do citros para ovos e larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae). *Neotropical Entomology*, v.33, n.5, p.639-646, 2004.
- GRAVENA, S. O controle biológico na cultura algodoeira. *Informe Agropecuário*, v.9, n.1, p.3-15, 2003.
- HASSAN, S.A.; DEGRANDE, P.E. Methods to test the side effects of pesticides on *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). *Curso de controle biológico com Trichogramma*. Piracicaba: FEALQ, 1996. p.63-74.
- HASSAN, S.A. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Ed.). *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.207-233.

- LHAMBY, J.C.B.; BACALTCHUK, B. *Informações técnicas para a Safra 2007 trigo e Triticale*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 74 p. (Embrapa Trigo: Documentos, 69).
- MEDINA, P.; BUDIA, F.; TIRRY, L.; SMAGGHE, G.; VINUELA, E. Compatibility of Spinosad, Tebufenozide and Azadirachtin with eggs and pupae of the predator *Chrysoperla carnea* (Stephens) under laboratory conditions. *Biocontrol Science and Technology*, v.11, n.5, p.597-610, 2001.
- MEDINA, P.; SMAGGHE, G.; BUDIA, F.; TIRRY, L.; VINUELA, E. Toxicity and absorption of azadirachtin, diflubenzuron, pyriproxifen, and tebufenozide after topical application in predatory larvae of *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae). *Pest Management*, v.32, n.1, p.196-203, 2003.
- MEDINA, P.; BUDIA, F.; DEL ESTAL, P.; VINUELA, E. Influence of azadirachtin, a botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. *Journal of Economic Entomology*, v.97, n.1, p.43-50, 2004.
- REIS, P.R. *Aspectos bioecológicos e seletividade de agroquímicos a Iphiseiodes zuluagai Denmark & Muma, 1972 (Acari: Phytoseiidae)*. 1996. 154f. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- ROUSSET, A. Reproductive physiology and fecundity, In: CANARD, M; SÉMÉRIA, Y; NEW, T.R (Ed.). *Biology of Chrysopidae*. Hague: Dr. W. Junk, 1984. p.116-129.
- SAYAH, F.; KARLINSKY, A.; BREUZET, M. Hormones regulating structural changes in the adipocytes of the female earwig *Labidura riparia*. *Tissue & Cell*, v.26, n.4, p.587-597, 1994.
- SAYAH, F.; KARLINSKY, A., BREUZET, M. In vivo inhibition of vitellogenesis in the Dermapteran *Labidura riparia* by 20-hydroxyecdysone. *Tissue & Cell*, v.27, n.5, p.575-583, 1995.
- SAYAH, F.; FAYET, C.; IDAOMAR, M.; KARLINSKY, A. Effect of azadirachtin on vitellogenesis of *Labidura riparia* (Insect Dermaptera). *Tissue & Cell*, v.28, n.6, p.741-749, 1996.
- SAYAH, F.; IDAOMAR, M.; SORANZO, L.; KARLINSKY, A. Endocrine and neuroendocrine effects of azadirachtin in adult females of earwing *Labidura riparia*. *Tissue & Cell*, v.30, n.1, p.86-94, 1998.
- SAYAH, F. Ultrastructural changes in the corpus allatum after azadirachtin and 20-hydroxyecdysone treatment in adult females of *Labidura riparia* (Dermaptera). *Tissue & Cell*, v.34, n.2, p.53-62, 2002.
- SILVA, R.A.; CARVALHO, G.A.; CARVALHO, C.F.; REIS, P.R.; PEREIRA, A.M.A.R.; COSME, L.V. Toxicidade de produtos fitossanitários utilizados na cultura do cafeeiro a larvas de *Chrysoperla externa* (Hagen) (Neuroptera: Chrysopidae) e efeitos sobre as fases subsequentes do desenvolvimento do predador. *Neotropical Entomology*, v.34, n.6, p.951-959, 2005.
- TANG, Y.Q.; WEATHERSBEE, A.A.; MAYER, R.T. Effect of neem seed extract on the brown citrus aphid (Homoptera: Aphididae) and its parasitoid *Lysiphlebus testaceipes* (Hymenoptera: Aphidiidae). *Environmental Entomology*, v.31, n.2, p.172-176, 2002.

Recebido em 6/9/2006

Aceito em 16/3/2009