EFEITOS DE INSETICIDAS BOTÂNICO E SINTÉTICOS SOBRE OVOS E LARVAS DE *CYCLONEDA SANGUINEA* (LINNAEUS) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) EM CONDIÇÕES DE LABORATÓRIO

L.V. Cosme¹, G.A. Carvalho², A.P. Moura³

¹Universidade Federal de Viçosa, Departamento de Biologia Animal, Setor de Entomologia, Av. P.H. Rolfs, s/nº, CEP 36571-000, Viçosa, MG, Brasil. E-mail: cosme@insecta.ufv.br

RESUMO

Este trabalho objetivou avaliar os efeitos do azadirachtina e de alguns inseticidas sintéticos utilizados na cultura do algodoeiro sobre ovos e larvas de primeiro e quarto instares do predador *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus). Nim-I-Go® (azadirachtina) foi utilizado nas concentrações de 1%, 5% e 10%, correspondendo a 10 mg/L, 50 mg/L e 100 mg/L de azadirachtina, respectivamente. Os inseticidas utilizados foram teflubenzurom (Nomolt 150 SC) (0,15 g i.a./L), lambdacialotrina (Karate Zeon 250 CS) (0,08 g i.a./L) e clorpirifós (Vexter 480 CE) (1,6 g i.a./L). O tratamento testemunha foi composto somente por água destilada. Utilizaram-se sete tratamentos com seis repetições, sendo cada parcela formada por três ovos ou larvas de *C. sanguinea*, sendo as aplicações realizadas com um pulverizador manual. Os bioensaios foram mantidos a $25 \pm 2^\circ \text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. Os insetos foram alimentados *ad libitum* com o pulgão-verde-do-sorgo *Schizaphis graminum* (Rondani). Todos os compostos avaliados reduziram a viabilidade de ovos. Lambdacialotrina e clorpirifós foram altamente tóxicos para larvas de 1ª e 4ª instar de *C. sanguinea*. Azadirachtina a 50 e 100 mg/L foi tóxica para larvas de quarto instar de *C. sanguinea*. Em função da baixa toxicidade apresentada, azadirachtina 10 mg/L e teflubenzuron apresentam as características mais favoráveis para uso em associação com *C. sanguinea* para o controle de pragas na cultura algodoeira, dentre os compostos testados.

PALAVRAS-CHAVE: Azadirachtina, produtos fitossanitários, joaninha, seletividade.

ABSTRACT

EFFECTS OF BOTANICAL AND SYNTHETIC INSECTICIDES ON EGGS AND LARVAE OF *CYCLONEDA SANGUINEA* (LINNAEUS) (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) UNDER LABORATORY CONDITIONS. The objective of this work was to evaluate the effects of azadirachtin and some synthetic insecticides used in the cotton crops on eggs and first- and fourth-instar larvae of *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus). The neem-based insecticide Nim-I-Go™ was used in the following concentrations: 1% (10 mg of azadirachtin/L), 5% (50 mg of azadirachtin/L) and 10% (100 mg of azadirachtin/L). The synthetic insecticides teflubenzuron (Nomolt 150 SC) (0.15 g a.i./L), lambda-cyhalothrin (Karate Zeon 250 CS) (0.08 g a.i./L) and chlorpyrifos (Vexter 480 CE) (1.6 g a.i./L) also were used in this study. Distilled water was used as control. A fully randomized experimental design was used, with seven treatments and six replicates, each one formed of three eggs or larvae of *C. sanguinea*. A manual sprayer was used to spray the solutions. The bioassays were kept in a room at $25 \pm 2^\circ \text{C}$, RH of $70 \pm 10\%$ and 12h photophase. The insects were fed with *Schizaphis graminum* (Rondani). Lambda-cyhalothrin and chlorpyrifos were harmful to all stages of *C. sanguinea*. Azadirachtin at 50 and 100 mg/L was toxic to fourth-instar larvae of *C. sanguinea*. Based in its low toxicity, azadirachtin 10 mg/L and teflubenzuron present favorable characteristics for use in the integrated pest management where *C. sanguinea* is an important factor of natural mortality of pests.

KEY WORDS: Azadirachtin, pesticides, lady-beetle, selectivity.

²Universidade Federal de Lavras, Departamento de Entomologia, Lavras, MG, Brasil.

³Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Genética, Seropédica, RJ, Brasil.

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 dependência 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).

Os insetos da família Coccinellidae apresentam grande importância no controle biológico, sendo que cerca de 90% dos insetos pertencentes a esse grupo são considerados benéficos, em função de sua atividade predatória, principalmente de afídeos e ácaros (IPERGI, 1999). Dentre estes, a joaninha *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) apresenta-se como uma das espécies mais importantes no Brasil, predando inúmeras espécies de pulgões em diversos agroecossistemas. Uma das formas de se preservar esse inimigo natural, portanto, se faz por meio da utilização de produtos seletivos (MEDINA et al., 2003).

Na tentativa de se reduzir impactos ao ambiente causados por produtos sintéticos, vem crescendo o número de pesquisas com produtos naturais, sendo que a planta com atividade inseticida, *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae), conhecida comumente por nim, é considerada uma das mais importantes em várias partes do mundo (MEDINA et al., 2004). O óleo de nim apresenta efeitos colaterais para inúmeras espécies de insetos-praga, como inibição da oviposição, da alimentação, do acasalamento, da motilidade intestinal, de biossíntese de quitina, e causando mortalidade, sendo também referenciado na literatura como um produto de baixa toxicidade a mamíferos e a INs, e também de rápida degradação no ambiente (BANKEN; STARK, 1997; BARBOSA et al., 2000; BRUNHEROTTO, 2000; BRUNHEROTTO, VENDRAMIM; 2001; BOEKE et al., 2004; NATHAN et al., 2005).

Desta forma, a compatibilização do uso do óleo de nim e de coccinelídeos no manejo de pragas surge como uma estratégia viável no contexto de agricultura sustentável, porém, necessitando 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 alguns inseticidas sintéticos recomendados para o controle de pragas na cultura do algodoeiro sobre *C. sanguinea*, em condições de laboratório.

MATERIAL E MÉTODOS

Criação de laboratório da presa. A espécie *Schizaphis graminum* (Rondani) (Homoptera: Aphididae) foi criada conforme metodologia proposta por pesquisadores do Centro Nacional de Pesquisas de Milho e Sorgo (CNPMS) – Embrapa (CRUZ; VENDRAMIM, 1989). Utilizaram-se folhas de sorgo da cultivar BR-301 retiradas de plantas cultivadas em uma área próxima ao Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras (UFLA).

Colônias de pulgões foram transferidas para seções foliares de sorgo com aproximadamente 63 cm², dispostas em bandejas plásticas (40 cm de comprimento x 20 cm de largura x 10 cm de altura). Dentro de cada bandeja foi colocada uma placa de isopor de 36 cm de comprimento x 16 cm de largura x 1 cm de espessura contendo 18 orifícios de 4 cm de diâmetro cada (três fileiras de furos de 4 cm de diâmetro, seis furos por fileira), onde as seções foliares foram fixadas. Adicionou-se água até a metade do volume de cada bandeja, para permitir a conservação do material vegetativo por maior tempo. Cerca de duas a três vezes por semana as seções foliares foram trocadas, sendo colocadas ao lado das novas para ocorrência da migração dos pulgões. A criação foi mantida em sala climatizada a 25 ± 2° C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Criação de laboratório de *C. sanguinea*. O predador foi coletado em plantas de laranja da cultivar Pêra Rio no pomar do Campus da UFLA, e criado em recipientes de vidro com 30 cm de comprimento x 30 cm de largura x 30 cm de altura, sendo fechadas na parte superior com tecido tipo *voile* mantidos em sala climatizada regulada a 25 ± 2° C, UR de 70 ± 10% e fotofase de 12h.

Diariamente, foram fornecidos pulgões *S. graminum* ao predador, e retirados os seus ovos com auxílio de pincel umedecido, os quais foram colocados em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, fechadas com filme de cloreto de polivinila (PVC) e mantidas nas mesmas condições anteriormente citadas. Ao eclodirem, as larvas foram transferidas para bandejas plásticas com 40 cm de comprimento x 20 cm de largura x 10 cm de altura, na proporção de 25 larvas por bandeja. Estas bandejas continham seções foliares de sorgo da cultivar BR-301, de 63 cm², infestadas com pulgões, permitindo que as larvas se alimentassem *ad libitum*. Após o consumo total dos pulgões pelo predador realizou-se a substituição das seções foliares. Quando os coccinelídeos atingiram o estágio de pupa foram, então, transferidos para placas de Petri de 15 cm de diâmetro, onde permaneceram até a emergência dos adultos, os quais foram distribuídos em novos

recipientes de vidro, dando início a outro ciclo de criação. A cada mês, realizaram-se coletas de adultos de *C. sanguinea* no Campus da UFLA, que foram incorporados à criação de laboratório, evitando-se assim problemas de endogamia e degeneração genética da população.

Bioensaios. O produto comercial Nim-I-Go® foi utilizado nas concentrações de 1%, 5% e 10%. Avaliaram-se também os inseticidas sintéticos teflubenzurom (Nomolt 150SC) (0,15 g.i.a./L de água), lambdacialotrina (Karate Zeon 250 CS) (0,08 g.i.a./L) e clorpirifós (Vexter 480 CE) (1,6 g.i.a./L), que foram aplicados nas maiores dosagens recomendadas pelos fabricantes para o controle de pragas na cultura do algodoeiro. Nim-I-Go®, segundo o seu fabricante, contém 1.000 mg de azadirachtina/L do produto comercial, sendo este considerado o principal ingrediente ativo de extratos de nim (MEDINA *et al.*, 2004). O tratamento testemunha foi constituído somente de água destilada.

Aplicação dos produtos. As pulverizações dos compostos foram realizadas por meio de um pulverizador manual com capacidade para 600 mL, assegurando a aplicação de $1,5 \pm 0,5$ mg de calda química/cm², conforme metodologia estabelecida por membros da IOBC (HASSAN, 1997). A calibração dos pulverizadores foi realizada aplicando-se água destilada em discos de papel-filtro que foram pesados antes e após as aplicações. A média das diferenças entre as pesagens foi utilizada como valor padrão. Os pulverizadores foram aferidos previamente à montagem de cada bioensaio.

Efeitos dos produtos sobre ovos e larvas de *C. sanguinea*. Ovos e larvas de primeiro e quarto instares do predador foram obtidos da criação de laboratório e transferidos para placas de Petri de 15 cm de diâmetro com auxílio de um pincel umedecido, onde receberam os produtos.

No experimento com ovos, duas horas após a aplicação dos compostos, eles foram individualizados em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, que foram fechadas com filme plástico de PVC laminado. Após a eclosão, as larvas sobreviventes foram colocadas sobre seções foliares de sorgo contendo pulgões em copos plásticos com capacidade para 50 mL, onde permaneceram até o final do experimento. Os copos contendo as folhas de sorgo com os pulgões e as larvas sobreviventes foram distribuídos em placas de Petri de 15 cm de diâmetro, em cujas bordas aplicou-se uma mistura de talco com fluon (politetrafluoroetileno) para impedir a fuga das larvas e mantidos em sala climatizada a $25 \pm 2^\circ$ C, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Os efeitos dos compostos para larvas de primeiro e quarto estádios foram avaliados conforme metodologia descrita por BANKEN; STARK (1997). Nes-

ses bioensaios, após aplicação dos produtos sobre indivíduos de primeiro e quarto instares, estes foram transferidos para seções foliares de sorgo contendo pulgões que encontravam-se em copos plásticos, de forma semelhante à realizada para o experimento com ovos. Após puparem, os insetos foram colocados em placas de Petri de 5 cm de diâmetro, que foram fechadas com filme de plástico de PVC laminado, até a emergência dos adultos.

Avaliaram-se diariamente a viabilidade dos embriões e das larvas e também a duração de cada estágio e/ou fase. No bioensaio com larvas de primeiro instar também foram determinadas as razões sexuais.

Foi utilizado o delineamento experimental inteiramente casualizado com sete tratamentos e seis repetições, sendo cada parcela constituída por três indivíduos (ovos ou larvas de primeiro e quarto instares).

Análises estatísticas. Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância através do programa estatístico Sisvar (FERREIRA, 2000), sendo as médias dos tratamentos comparadas por meio do teste de agrupamento de Scott-Knott a 5% de significância (SCOTT; KNOTT, 1974). Realizou-se análise de regressão para os dados referentes à sobrevivência das larvas de primeiro instar e da duração do quarto estágio, quando azadirachtina foi aplicada em larvas de primeiro instar.

RESULTADOS

Efeitos dos produtos sobre ovos. Nenhum dos produtos avaliados afetou a duração do período embrionário, do primeiro e segundo instares (Tabela 2), nem a sobrevivência dos dois primeiros estádios larvais quando foram aplicados sobre ovos (Tabela 1). Contudo, a viabilidade dos ovos foi reduzida por todos os compostos utilizados, principalmente pelo inseticida lambdacialotrina, que provocou mortalidade de todos os embriões (Tabela 1). Independente da concentração utilizada, azadirachtina foi nociva aos embriões do predador, sendo seus efeitos tão prejudiciais quanto aos observados para clorpirifós e teflubenzurom (Tabela 1).

Efeitos dos produtos sobre larvas de primeiro estágio. Quando aplicado sobre larvas de primeiro instar de *C. sanguinea*, teflubenzurom causou diminuição na sobrevivência das larvas no terceiro instar (Tabela 3); entretanto, não reduziu a duração dos estádios larvais (Tabela 4). Clorpirifós e lambdacialotrina foram os compostos mais nocivos às larvas, provocando mortalidades de 100 e 70% mortalidade logo após as aplicações (Tabela 3).

Tabela 1 - Viabilidade (%) ($\pm$ EP) de ovos e sobrevivência (%) ($\pm$ EP) de larvas de primeiro e segundo instares de *Cycloneda sanguinea* provenientes de ovos tratados. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Ovos ^{2,3}	Fase larval ¹	
		1ª Instar	2ª Instar ³
Azadirachtina 10 mg/L	52,8 $\pm$ 0,05 b	92,8 $\pm$ 5,97	80,0 $\pm$ 0,03
Azadirachtina 50 mg/L	41,7 $\pm$ 0,06 b	91,7 $\pm$ 8,33	73,9 $\pm$ 0,06
Azadirachtina 100 mg/L	44,4 $\pm$ 0,04 b	83,3 $\pm$ 10,54	65,3 $\pm$ 0,04
Clorpirifós	41,7 $\pm$ 0,05 b	79,2 $\pm$ 10,92	75,0 $\pm$ 0,14
Lambdacialotrina	0,0 $\pm$ 0,00 c	-	-
Teflubenzurom	33,3 $\pm$ 0,10 b	95,0 $\pm$ 4,08	66,7 $\pm$ 0,05
Testemunha	69,4 $\pm$ 0,02 a	91,7 $\pm$ 5,27	94,4 $\pm$ 0,02
Teste F	19,558**	0,620 ^{ns}	0,675 ^{ns}
CV (%)	25,82	21,75	22,76

¹As médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

²Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

³Dados transformados para arcsen $\sqrt{(x/100)}$.

Tabela 2 - Duração (dias) ($\pm$ EP) do período embrionário e do primeiro e segundo instares de larvas de *Cycloneda sanguinea* provenientes de ovos tratados. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Período embrionário ¹	Fase larval ¹	
		1ª Instar	2ª Instar ²
Azadirachtina 10 mg/L	2,9 $\pm$ 0,07	1,9 $\pm$ 0,05	1,6 $\pm$ 0,02
Azadirachtina 50 mg/L	2,9 $\pm$ 0,04	2,0 $\pm$ 0,14	1,3 $\pm$ 0,06
Azadirachtina 100 mg/L	2,8 $\pm$ 0,05	2,0 $\pm$ 0,04	1,5 $\pm$ 0,01
Clorpirifós	2,8 $\pm$ 0,04	2,3 $\pm$ 0,36	1,5 $\pm$ 0,01
Lambdacialotrina	*	*	*
Teflubenzurom	2,8 $\pm$ 0,06	1,7 $\pm$ 0,12	2,3 $\pm$ 0,03
Testemunha	2,9 $\pm$ 0,08	1,5 $\pm$ 0,16	1,6 $\pm$ 0,01
Teste F	1,402 ^{ns}	2,179 ^{ns}	1,312 ^{ns}
CV (%)	5,13	15,38	15,97

¹As médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

²Dados transformados para $\sqrt{(x + 0,5)}$.

*Número de indivíduos insuficiente para avaliação do parâmetro.

Fig. 1 - Modelos de regressão para sobrevivência de larvas de primeiro instar de *Cycloneda sanguinea* (1A) e duração do quarto instar (1B) quando larvas foram tratadas com azadirachtina.

Tabela 3 - Sobrevivência (%) ($\pm$ EP) de larvas e pupas de *Cycloneda sanguinea* provenientes de larvas de primeiro instar tratadas. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Fase larval				Fase pupal ¹
	1 ^o Instar ^{2,3}	2 ^o Instar ¹	3 ^o Instar ²	4 ^o Instar ¹	
Azadirachtina 10 mg/L	94,4 $\pm$ 3,51 a	83,8 $\pm$ 6,23	89,2 $\pm$ 4,90 a	100,0 $\pm$ 0,00	94,4 $\pm$ 5,56
Azadirachtina 50 mg/L	83,3 $\pm$ 4,30 a	96,7 $\pm$ 3,33	97,2 $\pm$ 2,78 a	96,7 $\pm$ 3,33	88,3 $\pm$ 8,33
Azadirachtina 100 mg/L	61,1 $\pm$ 5,56 b	86,9 $\pm$ 6,09	95,8 $\pm$ 4,17 a	88,9 $\pm$ 7,03	95,8 $\pm$ 4,17
Clorpirifós	0,0 $\pm$ 0,00 c	-	-	-	-
Lambdacialotrina	30,0 $\pm$ 0,00 c	*	*	*	*
Teflubenzurom	77,8 $\pm$ 8,24 a	95,8 $\pm$ 3,27	76,4 $\pm$ 10,19 b	100,0 $\pm$ 0,00	97,2 $\pm$ 2,78
Testemunha	94,4 $\pm$ 3,51 a	96,7 $\pm$ 3,33	100,0 $\pm$ 0,00 a	97,2 $\pm$ 2,78	96,7 $\pm$ 3,33
Teste F	85,652**	1,718 ^{ns}	2,921**	1,520 ^{ns}	0,475 ^{ns}
CV (%)	18,78	12,42	14,77	9,37	13,54

¹As médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

²Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

³Dados transformados para arcsen $\sqrt{(x/100)}$.

*Número de indivíduos insuficiente para avaliação do parâmetro.

Tabela 4 - Duração (dias) dos estádios larvais e de pupas e razão sexual ($\pm$ EP) de *Cycloneda sanguinea* quando larvas de primeiro instar foram tratadas. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Fase larval				Fase pupal ¹	Razão sexual ³
	1 ^o Instar ¹	2 ^o Instar ^{1,3}	3 ^o Instar ^{1,3}	4 ^o Instar ²		
Azadirachtina 10 mg/L	1,9 $\pm$ 0,22	1,7 $\pm$ 0,08	1,6 $\pm$ 0,11	3,1 $\pm$ 0,06 a	3,6 $\pm$ 0,20	0,5 $\pm$ 0,05
Azadirachtina 50 mg/L	1,7 $\pm$ 0,05	1,3 $\pm$ 0,02	1,5 $\pm$ 0,03	4,0 $\pm$ 0,11 b	3,2 $\pm$ 0,15	0,5 $\pm$ 0,02
Azadirachtina 100 mg/L	1,9 $\pm$ 0,15	1,3 $\pm$ 0,02	1,5 $\pm$ 0,06	4,0 $\pm$ 0,20 b	3,3 $\pm$ 0,16	0,5 $\pm$ 0,07
Teflubenzurom	1,6 $\pm$ 0,03	1,7 $\pm$ 0,07	1,7 $\pm$ 0,08	2,8 $\pm$ 0,17 a	3,6 $\pm$ 0,20	0,6 $\pm$ 0,05
Testemunha	1,7 $\pm$ 0,02	1,3 $\pm$ 0,01	1,3 $\pm$ 0,04	3,2 $\pm$ 0,13 a	3,3 $\pm$ 0,13	0,5 $\pm$ 0,04
Teste F	0,897 ^{ns}	1,913 ^{ns}	0,548 ^{ns}	14,972**	1,651 ^{ns}	0,068 ^{ns}
CV (%)	16,92	8,63	11,99	10,25	12,15	11,93

¹As médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

²Médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

³Dados transformados para $\sqrt{(x + 0,5)}$.

Tabela 5 - Sobrevivência (%) e duração (dias) ($\pm$ EP) de larvas de quarto instar e de pupas de *Cycloneda sanguinea* quando larvas de quarto instar foram tratadas. Temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Quarto instar		Fase pupal	
	Sobrevivência ²	Duração ¹	Sobrevivência ¹	Duração ¹
Azadirachtina 10 mg/L	90,0 $\pm$ 4,47 a	3,5 $\pm$ 0,16	96,7 $\pm$ 0,76	4,7 $\pm$ 0,21
Azadirachtina 50 mg/L	40,0 $\pm$ 10,33 b	*	*	*
Azadirachtina 100 mg/L	36,7 $\pm$ 6,15 b	*	*	*
Clorpirifós	0,0 $\pm$ 0,0 c	-	-	-
Lambdacialotrina	0,0 $\pm$ 0,0 c	-	-	-
Teflubenzurom	90,0 $\pm$ 4,47 a	3,4 $\pm$ 0,13	93,2 $\pm$ 0,76	4,8 $\pm$ 0,17
Testemunha	86,7 $\pm$ 6,67 a	3,1 $\pm$ 0,08	95,0 $\pm$ 0,76	4,3 $\pm$ 0,21
Teste F	50,032**	3,188 ^{ns}	2,056 ^{ns}	1,667 ^{ns}
CV (%)	28,56	9,37	3,15	10,48

¹As médias não diferem entre si pelo teste F a 5% de significância.

²As médias seguidas das mesmas letras não diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5% de significância.

*Número de indivíduos insuficiente para avaliação do parâmetro.

Azadirachtina, na maior dosagem, reduziu a sobrevivência das larvas de primeiro estágio, com média de 61,1% (Tabela 3), e para aquelas de quarto instar provenientes dessas, esse produto, nas dosagens de 50 e 100 mg/L, provocou um prolongamento do último instar larval, com médias de 4,0 dias (Tabela 4). Verificou-se que houve correlação linear inversa entre as concentrações do óleo de nim e a sobrevivência das larvas de primeiro instar, e direta entre a duração do quarto estágio larval e as dosagens (Fig. 1). Nos demais estádios larvais e na fase de pupa não houve efeito significativo da azadirachtina. A razão sexual não foi afetada por nenhum dos tratamentos avaliados (Tabela 4). Verificou-se, também, a presença de larvas com anomalias morfológicas nos tratamentos com o óleo de nim.

Efeitos dos produtos sobre larvas de quarto estágio. Clorpirifós e lambdacialotrina provocaram 100% de mortalidade das larvas de quarto instar imediatamente após a pulverização; já teflubenzurom foi inócuo, não afetando nenhuma das características biológicas avaliadas. Azadirachtina 50 e 100 mg/L reduziram a sobrevivência das larvas de quarto estágio; porém, na concentração de 10 mg/L ele mostrou-se inócuo (Tabela 5).

DISCUSSÃO

Alguns inibidores da síntese de quitina podem impedir a síntese desse polissacarídeo no embrião, uma vez que atuam na polimerização de unidades UDP-N-acetil-D-glucosamino, o último precursor da quitina durante sua síntese (IZAWA *et al.*, 1985). Atribui-se a isso a mortalidade embrionária de *C. sanguinea* verificada para teflubenzurom. As larvas eclodidas dos ovos tratados não apresentaram problemas no seu desenvolvimento possivelmente devido à metabolização e/ou excreção do produto pelo seu organismo. Para clorpirifós, observou-se que a maioria dos ovos ficou escura, porém houve baixa viabilidade, indicando que a morte dos embriões ocorreu próximo à eclosão das larvas.

A redução da viabilidade dos ovos ocasionada pela azadirachtina demonstra que algum de seus ingredientes ativos, possivelmente a azadirachtina, interfere no desenvolvimento embrionário. Já foi demonstrado que a azadirachtina afeta as mitocôndrias, podendo deixá-las inoperantes e sem função (MORDUE; BLACKWELL, 1993; VOGT *et al.*, 1998). Como as mitocôndrias são as responsáveis pela produção de energia necessária ao desenvolvimento dos embriões, é provável que tenham sido afetadas. A ação ovicida do óleo de nim para coleópteros também foi observada por CREDLAND (1992) em insetos da família Bruchidae. Segundo esse autor, a presença de um pequeno funil (micrópila) no final da parte posterior

do ovo pode ter facilitado a entrada do óleo de nim, provocando a morte do embrião. As larvas oriundas dos ovos tratados não foram afetadas pela azadirachtina, devido, provavelmente, à metabolização e/ou excreção do produto no corpo do inseto.

As anormalidades morfológicas observadas nas larvas, principalmente quando a azadirachtina foi aplicada sobre aquelas de primeiro estágio, já foram descritas por BANKEN; STARK (1997) em *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae), quando eles realizaram pulverizações diretas sobre larvas de primeiro e quarto instares. Além desse efeito, produtos à base de nim podem provocar deformação das asas quando aplicado nas formas jovens de *C. septempunctata*. De acordo com esses autores, o efeito do óleo de nim é dependente de sua dosagem, o que foi confirmado no presente trabalho quando larvas de primeiro instar de *C. sanguinea* foram tratadas, visto que houve correlação linear inversa entre a sobrevivência das larvas e direta para duração do quarto estágio com a dosagem da azadirachtina.

A mortalidade causada pela azadirachtina para larvas de primeiro e quarto instares pode ser atribuída, segundo BANKEN; STARK (1998), ao momento de introdução da azadirachtina nos ciclos hormonais do inseto e à meia-vida do produto após a absorção. Durante a fase larval do inseto o ecdisônio e o hormônio juvenil são produzidos, sendo que a sua concentração pode ser alterada sensivelmente. Contudo, no último instar, a quantidade do hormônio juvenil decresce, permitindo que o nível de ecdisônio aumente provocando a pupação em insetos holometabólicos. A azadirachtina interfere no equilíbrio existente entre os dois hormônios. Esses autores relataram que uma alteração dos níveis de ecdisteróides antes da metamorfose parece ser mais crítica que a ação da azadirachtina nos instares iniciais, possivelmente porque as larvas jovens sofrem os efeitos dessa substância antes da pupação. Este fato foi verificado no presente trabalho, uma vez que as larvas tratadas sobreviventes apresentaram em sua maioria um desenvolvimento normal.

O prolongamento do último instar, observado para larvas de primeiro estágio tratadas com azadirachtina 100 mg/L, corrobora os resultados de BANKEN; STARK (1997). Provavelmente, as larvas não conseguiram metabolizar todo o produto antes de puparem. Esse efeito também pode estar relacionado ao fato da azadirachtina atuar nos processos de troca de tegumento e redução da alimentação dos insetos (VENDRAMIM, 1997; BARBOSA *et al.*, 2000; BRUNHEROTTO, 2000).

Outros estudos demonstraram que a aplicação de produtos ou extratos de nim provocou mortalidade de coccinelídeos e crisopídeos. LOWERY; ISMAN (1995) verificaram que emulsões de nim reduziram a sobrevi-

vência do coccinelídeo *Coccinella undecimpunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae). Para o crisopídeo *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera: Chrysopidae), VOGT *et al.* (1998) relataram que a aplicação de formulações de nim em laboratório provocou alterações na cutícula e músculos dos insetos tratados, mandíbulas mal formadas, desorientação das microfibrilas, destruição das mitocôndrias e fibras musculares mais espaçadas, além de mortalidade.

Os testes com óleo de nim sobre organismos não alvos, segundo BANKEN; STARK (1998), devem ser realizados utilizando-se diferentes formas de exposição dos organismos ao produto para se conhecer o seu real impacto. Entretanto, alguns autores relataram que produtos à base de nim já podem ser utilizados em programas de manejo integrado de pragas por serem seletivos a diversos inimigos naturais (GRIPWALL, 1999). Os efeitos nocivos de lambdacialotrina e clorpirifós já foram avaliados para os coccinelídeos predadores *C. sanguinea* e *Eriopsis connexa* Germar (Coleoptera: Coccinellidae) e para parasitóides *Aphidius* spp. (Hemiptera: Aphididae). Os produtos foram classificados como altamente tóxicos aos predadores, seguindo a seguinte escala: S (seletivo) = 0-20% de mortalidade, B (baixa) = 21-40%, M (média) = 41-60%, A (alta) = 61-100% (LHAMBY; BACALTCHUK, 2007). Esses efeitos também foram constatados no presente trabalho, sendo que os inseticidas impediram o desenvolvimento normal do predador, matando os insetos até mesmo em poucos minutos após sua aplicação, pois ambos agem em nível de sistema nervoso central.

Na presente pesquisa, foi constatado que Nim-I-Go® foi prejudicial a *C. sanguinea*, em condições de laboratório, demonstrando que os inseticidas naturais podem ser tão tóxicos a INs quanto os sintéticos. LOWERY; ISMAN (1995) constataram que, mesmo em condições de campo, o óleo de nim ainda apresentou toxicidade a outros INs de pulgões. Dessa forma, torna-se necessária a realização de testes em condições de semicampo e campo para averiguação dos efeitos do Nim-I-Go® sobre este predador.

CONCLUSÕES

- Azadirachtina a 10 mg/L e teflubenzuron (0,15 g/L) apresentam características favoráveis para uso no manejo integrado de pragas onde *C. sanguinea* é um importante fator de mortalidade natural de insetos-praga;
- Azadirachtina a 50 e 100 mg/L apresenta de moderada a alta toxicidade a essa espécie de coccinelídeo;
- Lambdacialotrina (0,08 g/L) é altamente tóxico para ovos de *C. sanguinea*;

• Clorpirifós (1,6 g i.a./L) e lambdacialotrina (0,08 g/L) são tóxicos a larvas de primeiro e quarto instares de *C. sanguinea*;

• Todos os tratamentos reduziram a viabilidade de ovos.

AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pela colaboração financeira no fornecimento da bolsa de iniciação científica (PIBIC/CNPq) ao primeiro autor.

REFERÊNCIAS

- BANKEN, J.A.O.; STARK, J.D. Stage and age influence on the susceptibility of *Coccinella septempunctata* (Coleoptera: Coccinellidae) after direct exposure to Neemix, a Neem insecticide. *Journal of Economic Entomology*, v.90, n.5, p.1103-1105, 1997.
- BANKEN, J.A.O.; STARK, J.D. Multiple routes of pesticide exposure and the risk of pesticides to biological controls: a study of neem and the seven-spot lady beetle, *Coccinella septempunctata* L. *Journal of Economic Entomology*, v.91, n.1, p.1-6, 1998.
- BARBOSA, A.P.; AMBROSANO, E.J.; ABREU JÚNIOR, H. *Nim: o protetor natural múltiplo*. Instituto Agrônomo de Campinas, Campinas. 2000. 41p.
- BOEKE, S.J.; BOERSMA, M.G.; A LINK, G.M.; VAN LOON, J.J.A.; VAN HUIS, A.; DICKE, M.; RIETJENS, I.M.C.M. Safety evaluation of neem (*Azadirachta indica*) derived pesticides. *Journal of Ethnopharmacology*, v.94, p.25-41, 2004.
- BRUNHEROTTO, R. *Bioatividade de extratos aquosos de Melia azedarach L. e Azadirachta indica A. Juss (Meliaceae) sobre Tuta absoluta (Meyrick, 1917) (Lep.: Gelechiidae) criadas em diferentes genótipos de tomateira* 2000, 76p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” – Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2000.
- BRUNHEROTTO, R.; VENDRAMIM, J.D. Bioatividade de extratos aquosos de *Melia azedarach* L. sobre o desenvolvimento de *Tuta absoluta* (Meyrick) (Lepidoptera: Gelechiidae) em tomateiro. *Neotropical Entomology*, v.30, n.3, p.455-459, 2001.
- LHAMBY, J.C.B.; BACALTCHUK, B. *Informações técnicas para a safra 2007 trigo e triticale*. Passo Fundo: Embrapa Trigo, 2007. 74p. (Embrapa Trigo: Documentos, 69).
- CREDLAND, P. The structure of bruchid eggs may explain the ovicidal effect of oils. *Journal of Stored Products Research*, v.28, n.5, p.1-9, 1992.
- CRUZ, I.; VENDRAMIM, J.D. Biologia do pulgão-verde em diferentes hospedeiros. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.3, n.24, p.277-282, 1989.
- FERREIRA, D.F. Análises estatísticas por meio do Sisvar para Windows versão 4.0. In: REUNIÃO ANUAL DA REGIÃO BRASILEIRA DA SOCIEDADE INTERNACIONAL DE BIOMETRIA, 45., 2000, São Carlos. *Anais*. São Carlos: UFSCar, 2000. p.255-258.

- GRAVENA, S. O controle biológico na cultura algodoeira. *Informe Agropecuário*, v.9, n.1, p.3-15, 2003.
- GRIPWALL, E. The effect of a neem-based insecticide on three important greenhouse pests. Integrated Control in Glasshouses. *IOBC Bulletin*, v.22, n.1, p.97-100, 1999.
- HASSAN, S.A. Métodos padronizados para testes de seletividade, com ênfase em *Trichogramma*. In: PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A. (Eds.) *Trichogramma e o controle biológico aplicado*. Piracicaba: FEALQ, 1997. p.207-234.
- IPERTI, G. Biodiversity of predaceous coccinellidae in relation to bioindication and economic importance. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, v.74, p.323-342, 1999.
- IZAWA, Y.; UCHIDA, M.; SUGIMOTO, T.; ASAL, T. Inhibition of chitin biosynthesis by buprofezin analogs in relation to their activity controlling *Nilaparvata lugens* Stal. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.24, n.4, p.343-347, 1985.
- LOWERY, D.T.; EMMAN, M.B. Toxicity of neem to natural enemies of aphids. *Phytoparasitica*, v.23, n.4, p.297-306, 1995.
- 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.
- MORDUE, A.J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. *Journal of Insect Physiology*, v.39, n.8, p.903-924, 1993.
- NATHAN, S.S.; KALAIVANI, K.; MURUGAN, K.; CHUNG, P.G. The toxicity and physiological effect of neem lemonoids on *Cnaphalocrocis medinalis* (Guenée) the rice leaf folder. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, v.81, p.113-112, 2005.
- REIS, P.R. Aspectos bioecológicos e seletividade de agroquímicos a Iphiseiodes zuluagai Denmark & Muma, 1972 (Acari: Phytoseiidae). 1996. 154p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz" - Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1996.
- SCOTT, A.J.; KNOTT, M.A. A cluster analyses method for grouping means in the analyses of variance. *Biometrics*, v.30, n.3, p.507-512, 1974.
- VENDRAMIM, J.D. Uso de plantas inseticidas no controle de pragas. In: CICLODEPALESTRASSOBRE AGRICULTURA ORGÂNICA. 2., 1997, São Paulo. *Anais*. São Paulo: Fundação Cargil, 1997. p.64-69.
- VOGT, H.; GONZALEZ, M.; ADAN, A.; SMAGGHE, G.; VINUELA, E. Efectos secundarios de la azadiractina, vía contacto residual, en larvas jóvenes del depredador *Chrysoperla carnea* (Stephens) (Neuroptera, Chrysopidae). *Boletín de Sanidad Vegetal de Plagas*, v.24, n.1, p.67-78, 1998.

Recebido em 3/7/06

Aceito em 3/9/07