

Fábio Mazzonetto¹ Renato Zapparoli Corbani² Alexandre Barcellos Dalri³

Resumo

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de extratos aquosos de *Azadirachta indica* na sobrevivência de *Diatraea saccharalis* e do parasitoide *Cotesia flavipes*. Para a obtenção do extrato vegetal de *A. indica*, as folhas foram secas em estufa de circulação forçada de ar a 40°C, durante 48 horas, e posteriormente trituradas em moinho de facas até obtenção do pó. Os extratos foram obtidos a partir da adição de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0g do pó vegetal em 100ml de água destilada, formando respectivamente as concentrações. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com seis tratamentos (testemunha, 0,5%, 1%, 2%, 3% e 5% de extrato aquoso de *A. indica*) e 40 repetições. Para a análise estatística utilizou-se o método de Kaplan-Meier e o teste de Log-Rank na obtenção e comparação das curvas de sobrevivência. Já para a análise dos dados de emergência de adultos do parasitoide *C. Flavipes*, foi utilizado o teste de Scott-Knott ao nível de 5% de probabilidade. As lagartas *D. saccharalis* apresentaram um menor tempo de sobrevivência quando expostas às dietas artificiais contendo as diferentes concentrações do extrato aquoso de *A. indica*. A utilização de extrato aquoso de *A. indica* afetou negativamente a emergência de adultos de *C. flavipes*, importante parasitoide de *D. saccharalis*, quando submetidos ao parasitismo de lagartas alimentadas com dieta artificial contendo diferentes concentrações de extrato aquoso de folhas secas deste vegetal.

Palayras-chave: Plantas inseticidas. Nim de A. indica. Broca da cana.

1 Introdução

Nos últimos tempos, a cadeia produtiva da cana-de-açúcar vem apresentando diversas transformações que influenciam de maneira significativa a dinâmica na entomofauna da cultura. Dentre outros, a introdução da colheita mecanizada de cana-de-açúcar crua foi um dos fatores que mais interferiu na dinâmica destas populações, independente de artrópodes considerados nocivos (pragas) ou benéficos, como os agentes de controle biológico e decompositores de matéria orgânica (MACE-DO; ARAÚJO, 2000).

¹ Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), Professor Titular. Descalvado, São Paulo, Brasil. coord.agronomia.des@unicastelo.br. (019) 35938500. Avenida Hilário da Silva Passos, 950, Bairro Parque Universitário, Descalvado, São Paulo, CEP 13690-000.

² Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), Professor Assistente. Descalvado, São Paulo, Brasil. renatozapparoli@hotmail. com. (019) 35938500. Avenida Hilário da Silva Passos, 950, Bairro Parque Universitário, Descalvado, São Paulo, CEP 13690-000.

³ Universidade Camilo Castelo Branco (UNICASTELO), Professor Assistente. Descalvado, São Paulo, Brasil. abdalri@uol.com.br. (019) 35938500. Avenida Hilário da Silva Passos, 950, Bairro Parque Universitário, Descalvado, São Paulo, CEP 13690-000.

Entre as diversas pragas que ocorrem na cultura, a broca da cana *Diatraea saccharalis* (Fabr., 1794) (Lepidoptera: Crambidae) é considerada uma das principais pragas. Os danos diretos são ocasionados durante o estágio larval pela abertura de galerias nos colmos, provocando perda de peso e ainda, quando a cultura está em início de desenvolvimento, podem causar a morte da gema central, sintoma também conhecido como "coração morto". Os prejuízos indiretos são ocasionados por microrganismos que, ao penetrarem pelos orifícios abertos pelas lagartas, promovem a inversão do açúcar ou contaminam o caldo, resultando perdas à produção de etanol e açúcar (MACEDO; BOTELHO, 1988).

Diante de todos estes aspectos e devido à importância do setor sucroalcooleiro para o agronegócio brasileiro e mundial, diversos trabalhos têm sido conduzidos com objetivo de determinar os danos econômicos desta praga à cultura (LOURENÇÃO et al., 1982; LANDELL et al., 1995; MACEDO; ARAÚJO, 2000; SOUZA et al., 2008). Como alternativa viável de manejo desta importante praga destaca-se o controle biológico (MACEDO; BOTELHO, 1988, YAMAUCHI et al. 1997, BOTELHO et al. 1999).

Dentre os agentes de controle biológico, destaca-se o parasitoide de lagartas *Cotesia flavipes* (Cameron) (Hymenoptera: Braconidae), que é o mais utilizado e difundido nas usinas produtoras de etanol, açúcar e derivados. De acordo com Gallo et al. (2002), este parasitoide larval foi introduzido no Brasil em 1974 e, desde então, vem-se destacando como agente de controle biológico.

Mesmo com todos os aspectos relacionados com a eficiência do controle biológico da broca da cana-de-açúcar através de *C. flavipes*, surge a necessidade do desenvolvimento de outras metodologias de controle que possam ser utilizadas em conjunto com o parasitoide, como o uso de plantas com propriedades inseticidas (GUERRA, 1985; BOGORNI; VENDRAMIN, 2003).

Dentre as diversas plantas com ação inseticida, destaca-se o uso de *Azadirachta indica* (nim ou amargosa), planta da família Meliaceae. Trata-se de uma espécie mundialmente estudada, cujos extratos aquosos e óleos têm se mostrado altamente eficientes no controle de pragas agrícolas, principalmente lepidópteros, que são os mais sensíveis às substâncias derivadas desta planta (SCH-MUTTERER, 1990). As vantagens do nim em relação a outras plantas inseticidas são eficiência em baixas concentrações, baixa toxicidade a mamíferos e menor probabilidade de desenvolvimento de resistência (VENDRAMIN; CASTIGLIONI, 2000).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de diferentes concentrações de extratos aquosos de *A. indica* sobre a sobrevivência de *D. saccharalis* e do parasitoide *C. flavipes*.

2 Material e métodos

Os experimentos foram conduzidos na Universidade Camilo Castelo Branco, Unicastelo, campus de Descalvado, Estado de São Paulo.

Criação estoque de Diatraea saccharalis

Para início da criação estoque, insetos adultos foram coletados em canaviais na região de Descalvado, foram levados ao laboratório e confinados em gaiolas confeccionadas com tubos de PVC (20cm de altura x 10cm de diâmetro), revestidas internamente com papel sulfite umedecido. A base da gaiola foi apoiada em placa de Petri (20 cm de diâmetro) e sua parte superior fechada com tela tipo filó amarrada com elástico (PARRA et al., 1999). Para alimentação dos adultos, foi mantido no interior de cada gaiola, um frasco de vidro (30 mL) contendo uma solução de água e mel à 10% (27 mL de água e 3 mL de mel) e um pavio confeccionado com algodão apoiado sobre uma tampa plástica vazada. Estes frascos foram substituídos a cada três dias para evitar o desenvolvimento de microrganismos. Foram mantidos dez casais por gaiola em câmara incubadora do tipo B.O.D. (25

 \pm 2°C, fotofase de 12h e umidade relativa de 70 \pm 5%). Após o início da oviposição, a retirada dos ovos foi realizada diariamente e estes armazenados em placas de Petri. Conforme as lagartas eclodiam, foram sendo transferidas para dieta artificial (PARRA; MISHFELDT, 1992) e após um dia na dieta, foram utilizadas nos bioensaios.

Obtenção do extrato vegetal de Azadirachta indica

Na obtenção do extrato vegetal de nim, folhas maduras foram coletadas de plantas mantidas no Centro Experimental da Unicastelo, da Universidade Camilo Castelo Branco, *Campus* de Descalvado, SP, cujas coordenadas geográficas são: latitude 21° 54′ 27″ S, longitude 47° 35′ 10″ W e altitude média de 615 m. Imediatamente após a coleta, as mesmas foram secas em estufa de circulação forçada de ar (40°C durante 48h) e, posteriormente, trituradas em moinho de facas até obtenção de pó vegetal, que foi armazenado em recipiente de vidro hermeticamente fechado. Os extratos aquosos foram obtidos a partir da adição de 0,5; 1,0; 2,0; 3,0 e 5,0 g do pó vegetal em 100 mL de água destilada para obtenção dos extratos com concentrações de 0,5%, 1%, 2%, 3% e 5% (peso/volume). A suspensão foi homogeneizada com auxílio de um agitador por cerca de 24 horas (para completa extração dos compostos hidrossolúveis). Após esse período, a solução foi filtrada utilizando-se quatro camadas do tecido "voil", obtendo-se o extrato aquoso final. Esta técnica de preparo do extrato aquoso foi baseada na metodologia utilizada por Baldin, Vendramin e Lourenção (2007).

Bioensaios com extrato de Azadirachta indica em Diatraea saccharalis e parasitóide Cotesia flavipes

Para o uso do extrato vegetal aquoso de folhas de nim sobre D. saccharalis e C. flavipes, foram utilizadas lagartas de primeiro ínstar e parasitoides recém eclodidos, oriundos de criação artificial. As diferentes concentrações do EVA (extrato vegetal aquoso) foram utilizadas da seguinte maneira: mergulhando-se pedaços de $2 \, \text{cm}^2$ de dieta artificial (durante 5 segundos) em recipiente contendo as diferentes concentrações da solução. Para fins de efeito testemunha, o procedimento descrito anteriormente foi o mesmo, porém, substituindo a aplicação da solução do EVA por água destilada. Após a aplicação dos tratamentos, as lagartas foram individualizadas em tubos de criação de fundo chato (de 8,5 cm de comprimento e 2,5 cm de diâmetro) e mantidas em câmara incubadora do tipo 8.0.0. (25 ± 2 °C, fotofase de 14h e umidade relativa de 60 ± 10 %) de acordo com o proposto por Parra (1996). Já o parasitismo nestas lagartas foi realizado através do oferecimento de um adulto do parasitoide C. flavipes para cada lagarta quando estas apresentavam aproximadamente 20 dias de idade.

As avaliações foram realizadas diariamente até as lagartas atingirem o estágio adulto, sendo avaliados os parâmetros mortalidade de lagartas e número de parasitoides emergidos destas nas lagartas tratadas com dieta artificial nas diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 6 tratamentos e 40 repetições por tratamento (40 tubos contendo uma lagarta em cada).

Para a construção e comparação das curvas de sobrevivência da *D. saccharalis*, utilizou-se o estimador Kaplan-Meier não paramétrico, ao nível de 5%. A comparação entre essas curvas foi feita pelo teste de Log-rank, considerando-se o nível de 5% de probabilidade. Para realização dessas análises foi utilizado um software específico denominado XLSTAT na versão demo 2011, que pode ser adicionado ao Excel.

Para avaliar o efeito dos tratamentos sobre o parasitoide, foi aplicado o teste de Scott-Knott ao nível 0,05 de significância, com o auxílio do software Assistat versão 7.5 beta (SILVA, 2008).

3 Resultados e discussão

Os dados do tempo de sobrevivência de lagartas de *D. saccharalis* submetidas a diferentes concentrações de extrato aquoso de Nim na dieta artificial encontram-se na Tabela 1.

Pôde-se verificar que as concentrações testadas do extrato aquoso de Nim adicionado na dieta artificial, proporcionaram um menor tempo de sobrevivência das lagartas de *D. saccharalis* quando comparados com o tratamento testemunha, diferindo estatisticamente deste. As concentrações de 1; 2; 3 e 5%, não diferiram entre si, porém apresentaram diferenças estatísticas quando comparadas também com a concentração 0,5%.

Tabela 1. Tempo de sobrevivência de lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidas as diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim, durante 29 dias (Descalvado, SP).

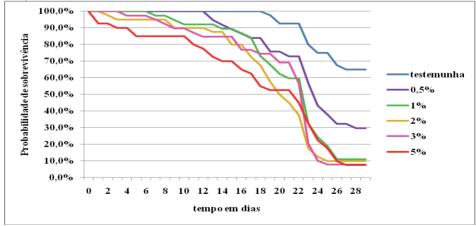
Tratamentos	Tempo (dias) ¹ ± EP ²			
Testemunha	25,73	±	0,37	а
0,5%	23,30	±	0,78	b
1%	21,06	±	0,80	С
2%	19,23	±	0,89	С
3%	20,13	±	0,90	С
5%	18,13	±	1,28	С

¹Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de log-rank a 5 %.

Fonte: Elaboração própria.

As curvas obtidas pelo estimador de Kaplan-Meier para as diferentes doses do extrato de Nim mostram que as curvas de sobrevivência relativas à testemunha e a dose 0,5% estão sempre acima das demais curvas (Figura 1). A comparação entre estas curvas pelo teste log-rank (Tabela 1) indica que não há diferença significativa entre as doses 1%, 2%, 3% e 5%.

Figura 1. Curvas de sobrevivência para as lagartas expostas às diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim (Descalvado, SP).



Fonte: Elaboração própria.

²Erro padrão da média.

Schneider (2008), estudando a ação do extrato oleoso de Nim sobre o desenvolvimento pupal e oviposição da *D. saccharalis*, verificou que o bioinseticida (NATUNEEM) diluído em água destilada nas doses de 0,0; 0,3; 0,5; 1,0 e 2.0% mostrou-se efetivo para pupas de diferentes idades deste inseto.

Tabela 2. Número de parasitoides, *Cotesia flavipes*, eclodidos em lagartas de *Diatraea saccharalis* submetidas à alimentação em dietas contendo as diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim (Descalvado, SP).

Doses de Nim na Dieta artificial para <i>D. saccharalis</i>	Número de parasitóides de <i>C. flavipes</i> eclodidos/lagarta ¹		
Testemunha	51,10 a		
0,5 %			
1,0 %	47,45 b		
2,0 %	45,95 b		
3,0 %	46,70 b		
5,0 %	45,45 b		
Tratamento	3,10*		
C.V. (%)	13,70		

¹Médias seguidas de letras distintas na coluna diferem entre si pelo teste de Scott-Knott a 5 %.

Fonte: Elaboração própria.

Pôde-se verificar que a eclosão de adultos do parasitoide *C. flavipes* foi maior na testemunha e quando se utilizou a dose 0,5% do extrato aquoso de Nim acrescido na dieta artificial de *D. sac-charalis*, diferindo estatisticamente das demais doses testadas (1,0; 2,0; 3,0 e 5,0%). Estes resultados evidenciam que o extrato afeta negativamente os parasitóides, diminuindo significativamente o número de adultos eclodidos, possivelmente devido às lagartas hospedeiras alimentadas com dietas adicionadas ao extrato aquoso de Nim serem uma fonte desfavorável para seu desenvolvimento.

Gonçalves-Gervásio e Vendramim (2004) observaram que o extrato aquoso de sementes de nim a 10% reduziu o número de ovos parasitados por *Trichogramma pretiosum* (15,2%), importante parasitoide de ovos de *D. saccharalis*, em comparação com a testemunha (49,4%), quando os ovos de *Anagastha kuehniella*, outro hospedeiro do parasitoide, foram tratados antes do parasitismo. Este mesmo tratamento também reduziu a emergência do parasitoide (71,7%) em comparação com a testemunha (99,0%). Também Broglio-Micheletti, Santos e Pereira-Barros (2006) verificaram que a emergência deste mesmo parasitoide foi afetada negativamente quando se utilizaram lagartas tratadas com óleo emulsionável de Nim nas concentrações 0,33; 0,53 e 1,0%.

4 Conclusões

Neste ensaio, pôde-se concluir:

- a) As lagartas *D. saccharalis* apresentaram um menor tempo de sobrevivência quando expostas às dietas artificiais contendo as diferentes concentrações do extrato aquoso de Nim.
- b) A utilização de extrato aquoso de Nim afetou negativamente a eclosão de adultos de *C. flavipes,* importante parasitoide de *D. saccharalis,* quando submetidos ao parasitismo de lagartas tratadas com extrato aquoso de folhas deste vegetal.

^{*} significativo a 5 % pelo teste F.

Effect of aqueous extracts of *Azadirachta indica* on survival of *Diatraea saccharalis* and hatching of the *Cotesia flavipes* parasitoid

Abstract

The objective of this study was to evaluate the effect of aqueous extracts of *Azadirachta indica* on the survival of *Diatraea saccharalis* and *Cotesia flavipes* parasitoid. For obtaining the plant extract of *A. indica* the leaves were dried in an oven of forced air at 40°C for 48 hours, and subsequently crushed in a Wiley mill to obtain powder. The extracts were obtained by adding 0.5, 1.0, 2.0, 3.0 and 5.0 g of vegetable powder in 100ml of distilled water, respectively forming the concentrations. The experimental design was completely randomized with six treatments (control, 0.5%, 1%, 2%, 3% and 5% aqueous extract of *A. indica*) and 40 repetitions. For the statistical analysis, we used the Kaplan-Meier method and log-rank test to obtain and compare the survival curves. As for the data analysis of the emergence of *C. Flavipes* adult parasitoid, we used the Scott-Knott test at 5% probability. Caterpillars *D. saccharalis* had shorter survival time when exposed to artificial diets containing different concentrations of aqueous extract of *A. indica*. The use of aqueous extract of *A. indica* negatively affected adult emergence of *C. flavipes* important parasitoid of *D. saccharalis*, when subjected to parasitism of larvae fed on artificial diet containing different concentrations of aqueous extract of dried leaves of this vegetable.

Keywords: Plant insecticides. Nim of *A. indica*. Sugarcane borer.

Referências bibliográficas

BALDIN, E. L. L.; VENDRAMIN, J. D.; LOURENÇÃO, A. L. Interaction between resistant tomato genotypes and plant extracts on *Bemisia tabaci* (GENN.) biotype B. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 64, n. 5, p. 476-481, 2007. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0103-90162007000500004&script=sci arttext>. Acesso em: 18 abr. 2013.

BOGORNI, P. C.; VENDRAMIN, J. D. Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 32, p. 665-669, 2003. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1519-566X2003000400018&script=sci_arttext. Acesso em: 18 abr. 2013.

BOTELHO, P. S. M. et al.. Associação do Parasitóide de Ovos *Trichogramma galloi* Zucchi (Hymenoptera: Trichogrammatidae) e do Parasitóide Larval *Cotesia flavipes* (Cam.) (Hymenoptera: Braconidae) no Controle de *Diatraea saccharalis*, (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae) em Cana-de-açúcar. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 28, n. 3, p. 491-496, 1999. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s0301-80591999000300015. Acesso em: 18 abr. 2013.

BROGLIO-MICHELETTI, S. M. F.; SANTOS, A. J. N.; PEREIRA-BARROS, J. L. Ação de alguns produtos fitossanitários para adultos de *Trichogramma galloi* Zucchi, 1988 (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Revista Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 30, n. 6, p. 1051-1055, 2006. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/cagro/v30n6/a01v30n6.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2013.

GALLO, D. et al. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002.

GUERRA, M. S. **Receituário caseiro:** alternativas para o controle de pragas e doenças de plantas cultivadas e de seus produtos. Brasília: Embrater, 1985.

GONÇALVES-GERVÁSIO, R. C. R.; VENDRAMIN, J. D. Efeito de extrato de meliáceas sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). **Neotropical Entomology**, Londrina, v. 33, p. 607-612, 2004.

KAPLAN, E. L.; P. MEIER. Nonparametric estimation from incomplete observations. **Journal of the American Statistical Association**, New York, v. 53, p.457-481, 1958.

LANDELL, M. G. A. et. al. Melhoramento da cana-de-açúcar: IX. Ensaios de clones provenientes de hibridações realizadas em 1980 e 1981 e selecionados na região de Ribeirão Preto (SP). **Bragantia**, Campinas, v. 54, n.2, p.275-286, 1995. Disponível em: http://www.scielo.br/pdf/brag/v54n2/06.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2013.

LOURENÇÃO, A. L. et al. Comportamento de clones de cana-de-açúcar em relação a Diatraea saccharalis (Fabr., 1794). **Bragantia**, Campinas, v.41, p.145-154. 1982.

MACEDO, N.; ARAÚJO, J. R. Efeitos da queima do canavial sobre parasitóides de larvas e de ovos de Diatraea saccharalis (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.29, n. 1, p. 79-84, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0301-80592000000100010>. Acesso em: 18 abr. 2013.

MACEDO, N.; BOTELHO, P. S. M. Controle integrado da broca da cana-de-açúcar, *Diatraea saccharalis* (Fabr.,1794) (Lepidoptera: Pyralidae). **Brasil Açucareiro.** Rio de Janeiro, v.160, p. 2-14, 1988.

PARRA, J. R. P. **Técnicas de criação de insetos para programas de controle biológico**. Piracicaba: FEALQ, 1996. 137p.

PARRA, J. R. P.; MISHFELDT, L.H. Comparison of artificial diets for rearing the sugarcane borer. In: ANDERSON, T.E.; LEPPLA, N.C. (Ed.) **Advances in insect rearing for research and pest management**, Colorado: Westview Press, 1992. p.195-209.

PARRA, J. R. P. et al. Efeito da nutrição de adultos e da umidade na fecundidade de *Diatraea saccharalis* (Fabr.) (Lepidoptera: Crambidae). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v.28, n.1, p.49-57, 1999. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0301-80591999000100005&script=sci_arttext. Acesso em: 18 abr. 2013.

SCHMUTTERER, H. Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. **Annual Review of Entomology**, Palo Alto, v.35, p.271-297, 1990.

SCHNEIDER, L. C. L. Ação do extrato oleoso de neem (*Azadirachta indica*) e do fungo *Metarhizium anisopliae* sobre o desenvolvimento pupal e oviposição da *Diatraea saccharalis* (*Fabricius*, 1794) (*Lepidoptera: Crambidae*) em condições de laboratório. 2008. 51 f. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Maringá, Maringá. Disponível em: http://www.pbc.uem.br/LarissaME2008.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2013.

SILVA, F. DE A. S. **Software Assistat: Assistência estatística**. Versão 7.5 beta. Campina Grande: UAEF-CTRN-UFCG, 2008.

SOUZA, Z. M. et al. Produtividade agrícola de variedades de cana-de-açúcar e incidência de brocacomum e cigarrinha em canavial colhido sem queima. **Bragantia**, Campinas, v.67, n.2, p.413-419, 2008.

VENDRAMIN, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, C. et al. (Org.). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS, 2000. p.113-128.

YAMAUCHI, M. N. et al. Relationship between number of ovipositions of *Cotesia flavipes* (Cam.) and number of descendants emerged from its host *Diatraea saccharalis* (Fabr.). **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, Londrina, v. 26, n. 1, p. 87-91, 1997. Disponível em: http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0301-80591997000100012&script=sci_arttext. Acesso em: 18 abr. 2013.

Histórico editorial

Recebido: 25/10/2012

Avaliação e copidesque: 26/10/2012 a 18/06/2013