

UFRRJ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
CURSO DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA

DISSERTAÇÃO

Efeitos de Extratos de Fumo e Nim sobre *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) e *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae)

Hágabo Honorato de Paulo

2017



**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

**EFEITOS DE EXTRATOS DE FUMO E NIM SOBRE *Myzus persicae*
(Sulzer) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) E *Coleomegilla maculata*
DeGeer (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE)**

HÁGABO HONORATO DE PAULO

Sob a Orientação da Professora

Dr^a. Elen de Lima Aguiar Menezes

e Co-orientação das Pesquisadoras

Dr^a. Alessandra de Carvalho Silva

Dr^a. Maria do Carmo de Araújo Fernandes

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em **Fitossanidade Aplicada**.

Seropédica, RJ
Julho de 2017

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Biblioteca Central / Seção de Processamento Técnico

Ficha catalográfica elaborada
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

H324e Honorato de Paulo, Hágabo, 1992-
Efeitos de Extratos de Fumo e Nim sobre Myzus
persicae (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) e
Coleomegilla maculata DeGeer (Coleoptera:
Coccinellidae) / Hágabo Honorato de Paulo. - 2017.
77 f.: il.

Orientadora: Elen de Lima Aguiar Menezes.
Dissertação(Mestrado). -- Universidade Federal Rural
do Rio de Janeiro, Fitossanidade e Biotecnologia
Aplicada, 2017.

1. efeito inseticida. 2. pulgão verde. 3. efeito
letal e subletal. 4. seletividade. 5. joaninha de
doze pintas. I. de Lima Aguiar Menezes, Elen, 1967-,
orient. II Universidade Federal Rural do Rio de
Janeiro. Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada III.
Título.

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DO RIO DE JANEIRO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FITOSSANIDADE E
BIOTECNOLOGIA APLICADA**

HÁGABO HONORATO DE PAULO

Dissertação submetida como requisito parcial para obtenção do grau de **Mestre em Ciências**, no Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada, Área de Concentração em **Fitossanidade Aplicada**.

DISSERTAÇÃO APROVADA EM 12/07/2017.

BANCA EXAMINADORA:

Elen de Lima Aguiar Menezes. Dr. UFRRJ
(Orientadora)

André Luis Santos Resende. Dr. UFRRJ

Marcelo Perrone Ricalde. Dr. Embrapa Agrobiologia

*Dedico a Deus e a minha família, e aos meus amigos pelo apoio, incentivo
nesta caminhada na busca da realização de um sonho.*

AGRADECIMENTOS

A Deus por tudo que tem me proporcionado nesta vida.

À minha Família pelo apoio, incentivo e pela confiança e amor dedicado a mim durante toda carreira de formação profissional, importante nos momentos difíceis enfrentando durante a caminhada.

À Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), e ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), e ao Programa de Pós-Graduação em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada (PPGFBA), ao qual proporcionou a oportunidade de formação acadêmica no Mestrado.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior) pela concessão da bolsa de estudo importante para realização do Mestrado.

À EMBRAPA-Agrobiologia (Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária), pelo apoio na realização das pesquisas. E a co-orientadora Dr^a Alessandra de Carvalho Silva (pesquisadora da Embrapa Agrobiologia, Seropédica, RJ), pela confiança e contribuição na realização das pesquisas, e a todos os pesquisadores e colaboradores da unidade que contribuíram de modo direto e indireto com a minha formação acadêmica e profissional.

À minha orientadora Prof.^a Dr^a Elen de Lima Aguiar Menezes (UFRRJ/ICBS/DENF/CIMP, Seropédica, RJ), pela orientação, meus sinceros agradecimentos pelo ensinamento, amizade e carinho e oportunidade de aprender um pouco mais sobre Entomologia Agrícola.

A co-orientadora Dr^a Maria do Carmo Araújo Fernandes (pesquisadora da PESAGRO-RJ, Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica, Seropédica, RJ) por ter aceitado a ideia da pesquisa, e pela abertura do Laboratório da Unidade para realização da elaboração e confecção do material necessário para realização dos experimentos. E a todos colaboradores da unidade pela receptividade durante os trabalhos executados na mesma.

Ao Prof. Aurino Florencio de Lima (UFRRJ/ICBS/DENF/CIMP, Seropédica, RJ), pela identificação conclusiva de *Myzus persicae*, espécie do pulgão objeto de estudo, e por sua grande contribuição para minha formação acadêmica profissional e social, e pela oportunidade de troca de conhecimentos nos intervalos de aula, e por sua amizade.

Ao Coordenador e aos Professores do PPGFBA que contribuíram para minha formação acadêmica científica e social, e ao técnico administrativo Roberto Tadeu Souza Oliveira, por todo suporte durante a realização do curso.

Ao Amigo José Romário de Carvalho pelo auxílio na realização das análises estatísticas, fundamental para realização desta pesquisa.

Aos Amigos do CIMP (Centro Integrado de Manejo de Pragas), do Alojamento M212 e do Alojamento da Embrapa Agrobiologia, por todo apoio em todos os momentos, ao qual passamos juntos nestes dois anos de curso, meus sinceros agradecimentos.

RESUMO GERAL

PAULO, Hágabo Honorato de. **Efeitos de extratos de fumo e nim sobre *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) e *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae)**. 2017. 77p. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada). Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

Na busca por uma agricultura sustentável, preocupada com o seu impacto no ambiente e a contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos, apoiada em práticas que promovam a agrobiodiversidade, e a inserção dos processos biológicos naturais no sistema, é importante o uso de produtos fitossanitários efetivos contra as pragas e preferencialmente seletivos às populações de inimigos naturais. Os objetivos deste estudo foram avaliar o potencial inseticida e a toxicidade, via aplicação tópica de extratos de folhas de nim (*Azadirachta indica*) e fumo (*Nicotiana tabacum*) produzidos a partir da concentração alcoólica de seus princípios bioativos em rotavapor e diluídos em água, em oito concentrações, sobre o pulgão *Myzus persicae* (Sulzer), e determinar os possíveis efeitos letais e/ou subletais desses extratos aquosos (CL₅₀ e CL₉₀) sobre ovos, larvas e adultos de seu predador *Coleomegilla maculata* De-Geer, quando alimentado com pulgões tratados com os extratos aquosos em condições de laboratório. As criações de *M. persicae* e *C. maculata*, bem como os experimentos, foram realizadas em condições controladas (25 ± 2°C, 60 ± 10% UR; e 12h de fotoperíodo). Os extratos foram preparados no laboratório de extratos de plantas no Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO)/PESAGRO-RIO. As pulverizações foram efetuadas com pulverizador manual calibrado, com a aplicação de 1,5 ± 0,5 mg de calda cm², de acordo com a metodologia estabelecida pela IOBC. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 8 (extrato de fumo e nim, com 8 concentrações, mais a testemunha) com 10 repetições. Foram realizadas avaliações 24, 48 e 72 horas após a aplicação dos produtos. As variáveis foram analisadas no programa estatístico R, utilizando o pacote *ExpDes.pt* e a função *nls* e o pacote *ecotoxicology* para a análise de Probit. Os extratos têm efeito inseticida sobre *M. persicae* nas doses testadas, causando mortalidade e redução do número de ninfas, à medida que aumentou a concentração. Uma criação matriz de *C. maculata* foi alimentada *ad libitum* com *M. persicae* por duas gerações, antes de iniciar os bioensaios. Foram realizados três bioensaios: I) efeitos dos extratos de plantas sobre ovos de *C. maculata*, II) efeitos dos extratos de plantas sobre larvas de terceiro instar de *C. maculata* alimentadas com pulgões tratados, e III) efeitos dos extratos de plantas sobre adultos machos e fêmeas de *C. maculata* alimentadas com pulgões tratados. Além da mortalidade, foram avaliados os efeitos dos extratos sobre os parâmetros biológicos de desenvolvimento dos insetos. Os extratos nas doses equivalentes a CL₅₀ e CL₉₀ reduziram a viabilidade dos ovos das joaninhas, e da sobrevivência das larvas provenientes destes ovos, influenciando em cada fase de desenvolvimento, reduzindo assim a emergência dos adultos. Os pulgões tratados fornecidos às larvas de terceiro instar afetaram o tempo de desenvolvimento e a sobrevivência em cada fase, reduzindo a população de adultos. Não houve mortalidade dos adultos de *C. maculata* alimentados com pulgões tratados, entretanto a porcentagem de eclosão das larvas provenientes das posturas após a alimentação foi reduzida.

Palavras-chave: *Nicotiana tabacum*, *Azadirachta indica*, pulgão verde, efeito inseticida, joaninha de doze pintas, efeito letal, efeito subletal.

GENERAL ABSTRACT

PAULO, Hágabo Honorato de. **Effects of tobacco and neem extracts on *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) and *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae)**. 2017. 77p. Dissertation (Magister Science in Phytosanitary and Applied Biotechnology). Institute of Biological Sciences and Health, Federal University of Rio de Janeiro, Seropédica, RJ, 2017.

In the quest for sustainable agriculture, concern about its impact on the environment and the contamination of the food chain with pesticides, based on practices that promote agrobiodiversity, and the insertion of natural biological processes into the system, it is important to use effective phytosanitary products against, the pests and preferably selective to the populations of natural enemies. The objectives of this study were to evaluate the insecticidal potential and toxicity, through topical application of extracts of neem (*Azadirachta indica*) and tobacco leaf (*Nicotina tabacum*) produced from the alcoholic concentration of its bioactive principles in rotavapor and diluted in water, (CL₅₀ and CL₉₀) on eggs, larvae, and adults of their predator *Coleomegilla maculata* De-Geer, when fed with treated aphids (*Myzus persicae*), and determine the possible lethal and / or sublethal effects of these aqueous extracts (CL₅₀ and CL₉₀) with aqueous extracts under laboratory conditions. The creations of *M. persicae* and *C. maculata*, as well as the experiments, were performed in climatic chambers (25 ± 2°C, 60 ± 10% RH and 12h). The extracts of the plants were prepared in the laboratory of extracts of plants in the State Center of Research in Organic Agriculture CEPAO / PESAGRO-RIO. Sprays were sprayed with a calibrated manual sprayer with 1.5 ± 0.5 mg of cm² in accordance with the methodology established by IOBC. The experimental design was completely randomized, with factorial arrangement 2 x 8 (smoke and neem) with 8 concentrations, plus the control, with 10 replicates. Evaluations were performed 24, 48 and 72 hours after application of the products. The variables were analyzed in the statistical program R, using the *ExpDes.pt* package and the *nls* function for the analysis of variance and non-linear regression, besides the use of the *ecotoxicology* package for Probit analysis. The extracts showed insecticidal effect on *M. persicae* at the doses tested, causing mortality and reduction in the number of nymphs, as the concentration increased. A matrix creation of *C. maculata* was fed ad libitum with *M. persicae* for two generations, before starting the bioassays. Three bioassays were performed: I) effects of plant extracts on *C. maculata* eggs; II) effects of plant extracts on third instar larvae of *C. maculata* fed with treated aphids; III) effects of plant extracts on adult males and females of *C. maculata* fed with treated aphids. In addition to mortality, the effects of the extracts on the biological parameters of insect development were evaluated. Extracts at doses equivalent to CL₅₀ and CL₉₀ reduced the viability of the eggs of the ladybugs, and the survival of the larvae from these eggs, influencing at each stage of development, thus reducing the emergence of adults. There was no mortality of the adults of *C. maculata* fed with treated aphids, however the percentage of hatching of the larvae from the postures after feeding was reduced

Key Word: *Nicotiana tabacum*, *Azadirachta indica*, green peach aphid, insecticidal effect, twelve-spotted lady beetle, lethal effect, sub-lethal effect.

INDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO I

Figura 1. Porcentagem de mortalidade de adultos ápteros de *Myzus persicae* tratados com extratos de fumo e nim em oito concentrações e a testemunha.....29

Figura 2. Produção de ninfas de *Myzus persicae* tratados com extratos de fumo e nim, em oito concentrações e a testemunha.....30

CAPÍTULO II

Figura 1. Deformações na pupa de *Coleomegilla maculata* (vista dorsal) oriundas de larvas de 3º instar com CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) de extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*).....57

Figura 2. Deformações na pupa de *Coleomegilla maculata* oriundas de larvas de 3º instar com CL₉₀ (A e B) de fumo (*Nicotiana tabacum*)57

Figura 3. Deformação em adultos de *Coleomegilla maculata* (vista dorsal) oriundos de larvas de 3º instar tratadas com CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) de nim (*Azadirachta indica*) e CL₉₀ de fumo (*Nicotiana tabacum*) (C e D)58

Figura 4. Adulto normal oriundo de larva de 3º instar proveniente da testemunha de *Coleomegilla maculata* em vista dorsal58

ÍNDICE DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Toxicidade relativa (em concentração-resposta) dos extratos de fumo e nim aplicados topicamente sobre adultos ápteros de <i>Myzus persicae</i> , com base na concentração letal (CL) 50 e 90	31
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

CAPÍTULO II

Tabela 1. Viabilidade dos ovos (%) e período embrionário (dias) de <i>Coleomegilla maculata</i> tratados com extrato de fumo (<i>Nicotiana tabacum</i>) e nim (<i>Azadirachta indica</i>) na CL ₅₀ e CL ₉₀ para <i>Myzus persicae</i>	50
------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 2. Duração (dias) e sobrevivência (%) dos instares larvais, pré-pupa e da pupa provenientes de ovos de <i>Coleomegilla maculata</i> tratados com extratos de fumo (<i>Nicotiana tabacum</i>) e nim (<i>Azadirachta indica</i>) na CL ₅₀ e CL ₉₀ para <i>Myzus persicae</i>	52
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 3. Duração do período larval (dias), ciclo biológico (dias) e sobrevivência dos adultos (%), provenientes de ovos de <i>Coleomegilla maculata</i> tratados com extrato de fumo (<i>Nicotiana tabacum</i>) e nim (<i>Azadirachta indica</i>) na CL ₅₀ e CL ₉₀ para <i>Myzus persicae</i>	54
---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 4. Peso (g), comprimento (mm) e largura (mm) de adultos de <i>Coleomegilla maculata</i> provenientes de ovos tratados com extrato de fumo (<i>Nicotiana tabacum</i>) e nim (<i>Azadirachta indica</i>) na CL ₅₀ e CL ₉₀ para <i>Myzus persicae</i>	54
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 5. Duração (dias) e sobrevivência (%) de larvas de 3º e 4º instar, pré-pupa e pupa provenientes de larvas de 3º instar de <i>Coleomegilla maculata</i> alimentadas com <i>Myzus persicae</i> tratados com extrato de fumo (<i>Nicotiana tabacum</i>) e nim (<i>Azadirachta indica</i>) na CL ₅₀ e CL ₉₀ para esse pulgão.....	55
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

Tabela 6. Emergência (%) e peso(g) de adultos de *Coleomegilla maculata* provenientes de larvas de 3º instar alimentada com *Myzus persicae* tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para esse pulgão.....56

Tabela 7. Sobrevivência de adultos (%), número total de posturas e ovos, e média de ovos por postura e eclosão de larvas provenientes de adultos de *Coleomegilla maculata* alimentados com *Myzus persicae* tratado com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na (CL₅₀ e CL₉₀) para esse pulgão.....59

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL	1
2. REVISÃO DE LITERATURA	4
2.1. Pulgão Verde (<i>Myzus persicae</i>)	4
2.2. Plantas Inseticidas.....	5
2.2.1. Nim Indiano	6
2.2.2. Fumo	8
2.3. Joaninha de Doze-Pintas (<i>Coleomegilla maculata</i>).....	9
2.4. Efeitos Letais e Subletais de Extratos Botânicos sobre Joaninhas	10
3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS	13
CAPÍTULO I - AÇÃO INSETICIDA DE EXTRATOS DE FUMO E NIM SOBRE <i>Myzus persicae</i> (Sulzer) (HEMIPTERA: APHIDIDAE).	20
RESUMO	21
ABSTRACT	22
1. INTRODUÇÃO	23
2. MATERIAL E METODOS	25
2.1. Procedências dos Pulgões	25
2.2. Criação de <i>Myzus persicae</i>	25
2.3. Obtenção dos Extratos Botânicos	26
2.4. Bioensaios	26
2.5. Análises Estatísticas.....	27
3. RESULTADOS	29
4. DISCUSSÃO	32
5. CONCLUSÕES	35
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	36

CAPÍTULO II - EFEITOS DIRETO E INDIRETO DE EXTRATOS DE FUMO E NIM SOBRE <i>Coleomegilla maculata</i> DeGeer (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) ALIMENTADAS COM <i>Myzus persicae</i> (Sulzer) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) TRATADOS COM OS EXTRATOS EM LABORATÓRIO	40
RESUMO.....	41
ABSTRACT	42
1. INTRODUÇÃO	43
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	45
2.1. Procedência dos Insetos	45
2.1.1. Criação de <i>Coleomegilla maculata</i> em Laboratório.....	45
2.1.2. Criação de <i>Myzus persicae</i> em Laboratório	46
2.2. Obtenção dos Extratos Botânicos	46
2.3. Bioensaios.....	47
2.3.1. Avaliação dos Extratos Botânicos sobre Ovos de <i>C. maculata</i>	47
2.3.2. Avaliação dos Efeitos dos Extratos Botânicos por Ação de Ingestão em Larvas de 3º instar de <i>C. maculata</i>	48
2.3.3. Avaliação dos Efeitos dos Extratos Botânicos por Ação de Ingestão em Adultos de <i>C. maculata</i>	49
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	50
3.1. Efeitos dos Extratos Botânicos sobre Ovos de <i>C. maculata</i>	50
3.2. Efeitos dos Extratos Botânicos no 3º instar de <i>C. maculata</i> via Ingestão de Pulgões Tratados.....	55
3.3. Efeitos dos Extratos Botânicos no Adultos de <i>C. maculata</i> via Ingestão de Pulgão Tratados.	59
4. CONCLUSÕES	61
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	62
6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	63

1. INTRODUÇÃO GERAL

A sociedade ao longo dos anos, preocupada com o seu bem-estar e com o impacto da agricultura no ambiente, além da contaminação da cadeia alimentar com agrotóxicos, vem buscando um modo sustentável de vida. Assim, surgiram segmentos de mercado que buscam por produtos alimentícios diferenciados, tanto aqueles produzidos sem uso de agrotóxicos, como os portadores de selos que garantem que os agrotóxicos foram utilizados adequadamente. Essa atitude causou uma transformação no cenário agrícola (BETTIOL & GHINI, 2001).

Um dos grandes desafios da agricultura no século XXI é, portanto, manter a produtividade dos cultivos e ao mesmo tempo melhorar a qualidade biológica (valor nutritivo), sanidade dos alimentos (ausência de resíduos tóxicos) e conservação dos recursos naturais de produção (solo, água, ar e organismos) para as gerações futuras, garantindo um produto de qualidade, sem comprometer a saúde das pessoas envolvidas na cadeia produtiva (AGUIAR-MENEZES, 2003).

Com esta tomada de decisão por parte da sociedade, houve um aumento da demanda por sistemas de produção agrícolas limpos e sustentáveis, como os indicados pela agricultura orgânica. Estima-se que de 1999 a 2010 a área agrícola mundial manejada organicamente (certificada) tenha aumentado de 11 para 37 milhões de hectares, representando crescimento médio anual da ordem de 21,5% neste mercado de produção (WILLER & KILCHER, 2012).

A agricultura orgânica, além de garantir produção de alimento seguro, sem utilização de agrotóxicos, incorpora questões relacionadas à preservação do meio ambiente, utilização responsável dos recursos naturais, responsabilidade social e sustentabilidade. De acordo com a Lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003, que dispõe sobre a agricultura orgânica, o conceito de sistema orgânico de produção agropecuária e industrial abrange os seguintes sistemas denominados de Ecológico, Biodinâmico, Natural, Regenerativo, Biológico, Agroecológicos, Permacultura e outros que atendam os princípios estabelecidos por esta lei (BRASIL, 2003; LIXA, 2013).

A agricultura orgânica é praticada comercialmente em 160 países, envolvendo 1,6 milhões de produtores, 37 milhões de hectares cultivados e um mercado de US\$ 59,1 bilhões em 2010 (WILLER & KILCHER, 2012). Neste modo de produção a preservação e manutenção de inimigos naturais 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 agrotóxicos, acarretando menor contaminação do solo, água, fauna e do próprio homem, além da mudança nos custos de produção (GRAVENA, 2003; COSME, et al., 2007; BANDEIRA & LIMA, 2013).

Entre os inimigos naturais de pragas agrícolas, destacam-se os insetos predadores da família Coccinellidae (Insecta: Coleoptera), popularmente conhecidos como joaninhas. Esses insetos são capazes de controlar de forma efetiva pulgões, cochonilhas, cigarrinhas, psíldeos, ninfas de mosca branca, ovos de lepidópteros e ácaros fitófagos, apresentando grande potencial para o controle biológico clássico, aumentativo ou conservativo (HODEK, 1973; OBRYCKI & KRING, 1998; SILVA et al., 2009)

Outro método de controle usado na tentativa de reduzir impactos ao ambiente causados por agrotóxicos orgânicos sintéticos está no uso dos chamados defensivos alternativo, entre os quais estão os inseticidas orgânicos naturais de origem botânica, ou simplesmente, os inseticidas botânicos (AGUIAR-MENEZES, 2005). Uma planta que se destaca pela sua ação inseticida, acaricida e fungicida é a *Azadirachta indica* A. Juss, conhecida comumente por nim ou neem, e o fumo (*Nicotiana tabacum* L.), o qual é considerado uma das plantas mais antigas usadas no controle de pragas em várias partes do mundo (MEDINA et al., 2004; RIBEIRO et al., 2009).

Os defensivos alternativos têm ação sobre os insetos de forma variável, podendo se caracterizar como uma substância tóxica, repelente, geradora de esterilidade, modificando o comportamento, ou até mesmo reduzindo a alimentação dos insetos benéficos (ARNASON et al., 1990; SOUZA, 2014). Deste modo, para que se tenha segurança na utilização deste método de controle no programa de manejo integrado de pragas, é necessário e inevitável o desenvolvimento de estudos que avaliem o efeito desse tipo de produto fitossanitário, através de teste de toxicidade destes aos inimigos naturais das pragas (RIBEIRO et al., 2009).

O nim é uma árvore da família Meliaceae, conhecida há séculos, e nas últimas décadas seu estudo tem se difundido devido às substâncias inseticidas presentes nas folhas e frutos, particularmente nas sementes. O nim foi usado primeiramente contra pragas caseiras e de armazéns, mas na Índia, seu país de origem, tem uso restrito às pragas da cultura do arroz (VIDIGAL et al., 2007). Entre os mais de 40 terpenóides já identificados na planta que possuem ação contra insetos, a azadiractina é o composto

mais eficiente (CARNEIRO et al., 2007; FERREIRA, 2012). De acordo com Carneiro (2008) esses compostos apresentam toxicidade extremamente baixa aos vertebrados, e persistência bastante curta no ambiente.

O fumo tem sido usado há muitos anos no controle de pragas na agricultura, existindo relatos do uso desde 1690 na Inglaterra. Porém em 1890, a nicotina foi reconhecida como o principal ingrediente ativo presente nesta planta, ao qual possui ação neurotóxica nos insetos (KATHRINA & ANTONIO, 2004; AGUIAR-MENEZES, 2005).

Em alguns estudos têm se observado que a seletividade de defensivos alternativos aos inimigos naturais, principalmente insetos entomófagos, tem sido menor ou muito próxima a de novos inseticidas orgânicos sintéticos, em condições de laboratório (BAHLAI et al., 2010). Um exemplo é o caso do uso do nim, que vêm sendo amplamente utilizado em sistemas orgânicos de produção no controle de pragas agrícolas. Contudo, alguns trabalhos têm demonstrado seu impacto negativo em diversas espécies de inimigos naturais das pragas, e até mesmo em polinizadores (NAUMANN & ISMAN, 1996; VENZON et al., 2007; COSME et al., 2007; GONTIJO et al., 2015; ZANUNCIO et al., 2016).

Neste sentido, este estudo teve como objetivos avaliar o potencial inseticida e a toxicidade via aplicação tópica de extratos de folhas de nim e fumo, produzida a partir da concentração alcoólica de seus princípios bioativos em rotavapor e diluída em água, sobre *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) que será tratado no Capítulo I, bem como determinar os possíveis efeitos letais e subletais desses extratos no predador *Coleomegilla maculata* (DeGeer, 1775) (Coleoptera: Coccinellidae), a ser tratado no Capítulo II.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1. Pulgão Verde (*Myzus persicae*)

Os pulgões ou afídeos surgiram há 280 milhões de anos, no período Permiano, possuem cerca de 4000 espécies no mundo, destas 250 são pragas na agricultura, tendo evoluído como insetos pragas em várias culturas de importância econômica (BLACKMAN & EASTOP, 2007; HOLTZ et al., 2015).

O pulgão verde denominado *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) vive em colônias numerosas nas folhas, mede cerca de 2 mm de comprimento, sendo a forma áptera de coloração verde clara a verde-escuro, enquanto a forma alada é de coloração geral verde, com cabeça, antena e tórax pretos. As fêmeas apresentam reprodução por partenogênese telítica, ou seja, sem a presença do macho, são vivíparas, desta forma não colocam ovos, mas sim as ninfas que apresentam aspectos morfológicos semelhantes aos insetos adultos (GALLO et al., 2002; MELO, 2012).

A espécie *M. persicae* apresenta os sinfúnculos dilatados na base e cilíndricos em sua extensão, diferenciando-a das outras espécies pela presença de tubérculos frontais distintos voltados para dentro na porção basal, e sinfúnculos da mesma cor do corpo e tão longo quanto à cauda (BARBAGALLO et al., 1997; BLACKMAN & EASTOP, 2007; MOURA et al., 2013).

O ciclo de vida de *M. persicae* na cultura do repolho consiste das fases de ninfa e de adulto, este apresenta quatro instares antes de atingir a fase adulta, por volta de 10 dias (DEVI & SINGH, 2007). A duração do desenvolvimento dos quatro instares de *M. persicae*, em folhas de couve (*Brassica oleracea* L. var. *acephala* DC.), diminui com o aumento da temperatura, no entanto entre 20 e 25 °C permanece constante (CIVIDANES & SOUZA, 2003; MOURA et al., 2013).

Os adultos podem desenvolver asas (alados) devido ao aumento populacional e escassez de alimento em uma planta, assim como a redução da temperatura pode estimular o surgimento de alados que migram e colonizam outras plantas (GALLO et al., 2002). Estes insetos possuem hábito gregário e tem preferência pela face abaxial da planta. As fêmeas apresentam alta prolificidade, proporcionando uma geração com cerca de 50 a 100 ninfas/fêmea (BLACKMAN & EASTOP, 2000; VAN EMDEN, 2013; LIU & SPARKS JR., 2016).

O pulgão verde é um inseto altamente polífago, cuja presença de um único indivíduo na cultura é motivo de atenção devido sua rápida reprodução, e aos prejuízos diretos causados pela sucção da seiva das plantas, e injeção de toxinas que podem acarretar a deformação dos tecidos foliares, a formação de galhas, causando murchamento, e redução da taxa de crescimento, além dos prejuízos indiretos, causados pela transmissão de doenças, uma vez que atua como transmissor de mais de 120 doenças nas plantas (BARBAGALLO et al., 1997; BLACKMAN & EASTOP, 2000; MOURA et al., 2013).

Os pulgões excretam uma substância açucarada (honeydew) que serve de substrato para o desenvolvimento de fumagina (*Capnodium* sp.), um fungo de coloração preta. Em alta população da praga, a fumagina pode tornar-se espessa e bloqueia a luz solar, reduzindo a fotossíntese e afetando o rendimento da cultura (LIU & SPARKS JR., 2001; SALVADORI et al., 2005; HOLTZ et al., 2015).

Apresentam resistência a pelo menos três classes de inseticidas químicos (FOSTER et al., 2000), e por esse motivo, tornou-se uma das principais pragas da agricultura (KASPROWICZ et al., 2008).

Na busca de medidas alternativas ao controle químico sintético, o uso de produtos do nim (*Azadirachta indica* L.) tem obtido destaque nas pesquisas, demonstrado a capacidade de redução da população de pulgões em condições de laboratório e casa de vegetação, quando utilizados formulado comercial, extratos aquosos ou etanólicos de sementes ou folhas (VENZON et al., 2007; ; DELÁ et al., 2014; SHANNAG et al., 2014). Esta planta tem seu uso como produto formulado registrado no MAPA para o controle de *M. persicae* apenas para as culturas da alface (*Lactuca sativa* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) e fumo (*Nicotiana tabacum* L.) (AGROFIT, 2017), demonstrando assim a necessidade de novas pesquisas, a fim de estudar métodos de controle alternativo em outras culturas visando o manejo de praga.

2.2. Plantas Inseticidas

As plantas ao longo da sua evolução desenvolveram sua própria defesa química contra os insetos herbívoros, sintetizando metabólitos secundários com propriedades inseticidas (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000; RIBEIRO, et al., 2009). De acordo com Schaller (2008), os compostos fenólicos, tais como flavonóides e taninos são metabólitos secundários com reconhecida atividade inseticidas, por conferirem

proteção à planta contra a herbívoros. Além desses, outros compostos, tais como, glicosídeos, sesquiterpenos, carotenoides, triterpenoides, e alcaloides, que também são indicados como eficientes no controle de insetos (SCHOONHOVEN et al., 2005; BOTTI et al., 2015).

A utilização de formas alternativas ao uso de agrotóxicos no controle de pragas é um dos objetivos de modo a favorecer o meio ambiente, evitando as consequências negativas dos inseticidas químicos sintéticos, usados no sistema convencional, em busca da sustentabilidade. De forma a substituir os inseticidas sintéticos por produtos biológicos e botânicos, de modo a buscar minimizar e/ou eliminar resíduos químicos nos alimentos, água e solo (BOTTI et al., 2015).

Os inseticidas botânicos são produtos derivados das plantas, ou partes delas, podendo ser o próprio material vegetal, normalmente moído até ser reduzido a pó, ou seus produtos derivados por extração aquosa ou em solventes orgânicos (CLOYD, 2004; RIBEIRO et al., 2009; MONDEDJI, 2016). Apesar da utilização de inseticidas botânicos ter entrado em desuso após o advento dos inseticidas sintéticos (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000), atualmente a sua utilização vem sendo bastante difundida devido à necessidade de novos compostos para integrarem os programas de manejo de pragas nos cultivos agrícolas. Os extratos de plantas com potencial inseticida têm sido utilizados em sistemas de produção onde não é permitido o uso de agrotóxicos, como no sistema de produção orgânica, e em alguns sistemas familiares, devido à fácil aquisição e ao custo relativamente baixo, quando comparado aos inseticidas convencionais (VENZON et al., 2007).

2.2.1. Nim Indiano

O nim (*Azadirachta indica* L.) é uma planta da família Meliáceae, conhecido na Índia por sua ação medicinal, porém nas últimas décadas seu estudo tem conquistado destaque devido à presença de substâncias inseticidas (MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005). Além dessas ações inseticidas, o nim ainda é classificado como fungicida e nematicida, sendo este indicado para o controle da mosca branca, pulgões, mosca minadora, nematoides, lagartas e outros (SOUZA & RESENDE, 2003; MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005).

Entre os mais de 40 terpenóides já identificados na planta e que possuem ação contra insetos, a azadiractina é o composto inseticida mais eficiente, sendo este

encontrado em todas as partes da planta, tais como cascas, folhas, sementes e frutos. Esses compostos têm grande potencial no controle de pragas, apresentam toxicidade extremamente baixa aos vertebrados, têm baixo impacto no ambiente, sendo indicado para o uso no manejo integrado de pragas (BRUNETON, 1995; NEVES et al., 2003; CARNEIRO et al., 2007; BIERMAN, 2009; FERREIRA, et al., 2014).

A azadiractina principal composto extraído do nim é um limonóide que atua interferindo no funcionamento de glândulas endócrinas, que controlam a metamorfose em insetos. Para os insetos essa substância tem efeito repelente, regulador de crescimento e antialimentar, agindo por contato ou ingestão, reduz a fertilidade de fêmeas e causa anormalidade anatômica em diversas espécies de insetos (ISMAN 2006; ARAÚJO JÚNIOR 2008; SHANNAG, et al., 2014).

Alternativas para controle de várias pragas estão no uso do nim, com o uso de formulado ou extratos de folhas e sementes, sendo um dos inseticidas de origem botânico mais estudado e utilizado para controle de pragas em inúmeras culturas (DEV 1997; ARAÚJO JÚNIOR, 2008).

Estudos relatam que o óleo das sementes de *A. indica* possui atividade inseticida sobre as três fases de *Lutzomyia longipalpis* (Lutz & Neiva, 1912) (Diptera: Psychodidae) em laboratório (MACIEL et al., 2010). Cerca de 300 espécies de insetos, pertencente às Ordens Hemiptera, Orthoptera, Coleoptera, Lepidoptera, Isoptera (Blattodea) e Hymenoptera são afetadas pela azadiractina. O efeito do extrato alcoólico de nim pode ser comprovado pelo trabalho de Botti et al. (2015), ao qual apresenta mortalidade média de ninfas de *Brevicoryne brassicae* (L.) (Hemiptera: Aphididae) de 60% nas concentrações de 2,0%, após 48 horas de aplicação da solução. Com três dias pós-aplicação da solução nas concentrações de 0,5% e 3,0%, a mortalidade média das ninfas variaram de 60 a 80,00%.

A utilização do extrato da semente de nim nas concentrações de 0,05 e 0,1g de azadiractina por litro, reduziu o crescimento populacional de *M. persicae* testado sobre folhas da cultura da pimenta em laboratório (VENZON et al., 2007). De acordo com trabalho de Shannag et al. (2014) estudando a eficácia de três diferentes biopesticidas à base de óleo de nim contra o pulgão verde (*M. persicae*), no laboratório e em estufa, verificaram que Azatrol[®], resultou em redução de 50% na atividade de alimentação de pulgões tratados em comparação com o controle. Os resultados indicaram que as formulações a base de nim testadas foram eficientes na supressão da população do pulgão verde.

No estudo de Delá et al.. (2014) que avaliou extratos preparados à base de folhas de nim como agentes inseticidas contra o pulgão verde, através do desempenho biológico e da avaliação do comportamento alimentar, verificou-se que os extratos de água e etanol das folhas de nim em 1%, 5% e 10% administrados via dieta artificial, reduziram a sobrevivência das ninfas, provocando 95% de mortalidade. E que ambos os extratos a 0,1% reduziram significativamente a taxa de sobrevivência e a fecundidade de adultos de *M. persicae*, demonstrando que as preparações à base de folhas de nim testadas foram eficazes para controlar o pulgão verde (DELÁ et al., 2014).

Porém, mesmo tendo demonstrado eficiência nas pesquisas no controle de pulgão, apenas três produtos formulados à base azadiractina estão registrados no MAPA: Azamax[®] (formulação CE com 12 g de azadiractina/litro do produto comercial) e Azact CE[®] e DalNeem EC[®], mas apenas o primeiro é registrado para o controle de *M. persicae* nas culturas da alface, tomate e fumo e o segundo é registrado para controle de moscas-brancas e oídio em feijão, melão e tomate (AGROFIT, 2017), evidenciando assim a importância de novos estudos para registro de produtos à base de nim para outras culturas agrícolas que são danificadas por *M. persicae*, a fim de ser mais uma alternativa para o controle do pulgão verde.

2.2.2. Fumo

Espécies do gênero *Nicotiana* L. (Solanaceae) são referidas como tóxicas, ornamentais, e algumas são fontes de substâncias inseticidas, como a anabasina, a nicotina e a nornicotina (SIMÕES et al., 2003). De acordo com Aguiar-Menezes (2005), a nicotina é um alcalóide derivado de várias plantas, entre elas *N. tabacum* (Solanaceae), é o principal ingrediente ativo com poder inseticida. É uma substância que age por contato e é absorvido pelo tegumento do inseto, afetando o sistema nervoso central, pois é análoga da acetilcolina, causando rapidamente a morte do inseto. É um dos inseticidas botânicos mais tóxicos aos seres humanos, facilmente absorvidos pela pele, olhos e mucosa (BIERMANN, 2009).

Foi relatado por Lovatto et al. (2004), o efeito inseticida de plantas da família solanaceae, no controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) com extrato feito a partir de folhas com 10% de concentração, sendo comprovado o efeito bioinseticida. Resultado semelhante foi descrito por Machado et al.

(2007) sobre o efeito das plantas de fumo sobre adultos de *Diabrotica speciosa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Chrysomelidae).

O uso do fumo preparado tanto como extrato seco quanto fresco das folhas, confeccionadas a 10% destaca-se por apresentar um controle eficiente de *M. persicae*, diferindo da testemunha seis horas após a aplicação, sendo indicado seu uso como alternativa no cultivo agroecológico da couve-manteiga (RANDO et al., 2011).

Os produtos à base de nicotina são utilizados como fumigante em casa de vegetação, pois apresentam ação de contato quando pulverizado nos insetos sugadores, especialmente insetos de corpo mole, como pulgões, mosca branca, cigarrinhas, tripés e ácaros (MOREIRA et al., 2006).

2.3. Joaninha de Doze-Pintas (*Coleomegilla maculata*)

Entre os inimigos naturais das pragas agrícolas, destacam-se as espécies de insetos conhecidas vulgarmente como joaninhas, desempenhando papel significativo no controle biológico de insetos e ácaros fitófagos nos agroecossistemas. As joaninhas são consideradas os predadores mais eficientes e vorazes de afídeos (ou pulgões), na cultura do trigo, sendo que cada indivíduo tem a capacidade de consumir até 43 afídeos/dia (GASSEN, 1988; CORREA, 2011).

As joaninhas pertencem à Família Coccinellidae da ordem Coleoptera. Esta família é uma das principais representantes da ordem, com grande variedade de hábito alimentar, 90% das espécies apresenta hábito predador. Agrupa cerca de aproximadamente 500 gêneros e 6000 espécies conhecidas no mundo (COSTA LIMA, 1953; MILLÉO et al., 2007).

Os coccinélídeos ocorrem em todos os tipos de ecossistemas terrestres, sejam em tundras, cerrados, florestas, planícies ou montanhas, e estão presentes em todas as partes do mundo. No Brasil são conhecidos pelo nome de “joaninhas”, para os norte americanos são as "lady beetles", as "ladybird beetles" dos ingleses e os "bêtes à Dieu" dos franceses e “catarinas e mariquitas” dos espanhóis (COSTA LIMA, 1953; OBRYCKI & KRING, 1998).

A joaninha *Coleomegilla maculata* DeGeer, está amplamente distribuída pelas Américas do Norte, Central e do Sul, incluindo o Brasil (LIXA et al. 2010). É uma espécie predadora de afídeos, mas que também se alimenta de ovos e larvas neonatas de Lepidoptera e Coleoptera, incluindo espécies pragas (HODEK & EVANS, 2012).

Em prática de manejo do agroecossistemas para o controle de pragas, com o uso do controle biológico conservativo, em condições de campo em Nova Jersey (EUA), foi observado aumento do número de *C. maculata* DeGeer, quando a berinjela (*Solanum melongena* L., Solanaceae) foi consorciada com coentro (*Coriandrum sativum* L.) ou endro (*Anethum graveolens* L.) (ambas Apiaceae), resultando em crescimento da taxa de consumo de ovos da praga da berinjela, *Leptinotarsa decemlineata* (Say), (Coleoptera: Chrysomelidae) em comparação ao sistema de monocultivo, onde o número de larvas sobreviventes da praga (que são desfolhadoras como os adultos) foi significativamente superior do que no consórcio (PATT et al., 1997; SACRAMENTO, 2016).

As pesquisas sobre criação massal e eficiência de *C. maculata* têm demonstrado que essa joaninha tem boa probabilidade de ser bem-sucedida no controle biológico aumentativo (LUCAS et al., 2004). Um dos insetos predadores mais comuns na cultura da batata, no Nordeste dos EUA (OBRYCKI & TAUBER, 1985 *apud* MUNYANEZA & OBRYCKI, 1998), sendo considerado um importante inimigo natural de ovos e larvas de *L. decemlineata*, uma praga chave dessa cultura, predando 50% dos ovos dessa praga na primeira geração (HAZZARD et al., 1991; MORALES & ROJAS, 2017).

No Brasil, pesquisas têm sido conduzidas no Estado do Rio de Janeiro com joaninhas afidofagas em condições de campo e laboratório, pelo Centro Integrado de Manejo de Pragas (CIMP) na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, no município de Seropédica, avaliando metodologias de criação, biologia de desenvolvimento com diferentes fontes de alimentação, e efeitos de produtos inseticidas no predador *Coleomegilla maculata* DeGeer e *Eriopis connexa* (Germar) (LIXA, 2008; D'AVILA, 2012; SILVA, 2014; SACRAMENTO, 2016).

2.4. Efeitos Letais e Subletais de Extratos Botânicos sobre Joaninhas

As pesquisas que visam avaliar os efeitos de inseticidas botânicos no manejo de pragas, e a possibilidade de associar aos predadores em programas de controle biológico, são ainda principiantes. Os efeitos dos inseticidas botânicos sobre pragas e seus inimigos naturais está sendo analisadas a partir das estimativas de toxicidade ou seletividade, baseadas em doses (DL₅₀) ou concentrações (CL₅₀) letais médias (DESNEUX et al., 2007, 2008; REGAN et al., 2017).

Apesar do potencial de uso das plantas inseticidas para utilização no manejo do pulgão *Aphis gossypii* (Glover, 1877) (Hemiptera: Aphididae), como, o extrato aquoso de nim e o óleo de mamona, este tem efeito de toxicidade a larvas de 1º e 4º instares de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae), em concentrações letais quanto subletais para o pulgão. A azadiractina a 0,25% ocasionou 96,7 e 87,5% de mortalidade a larvas de 1º e 4º instares, respectivamente. A concentração de 1,5% provocou mortalidade de 100% para ambos os instares, assim como a de 2,25% do extrato aquoso de nim (BREDA et al., 2011). Em todos os tratamentos mencionados, a emergência de adultos foi nula e, em alguns casos, houve adultos malformados (metamorfose incompleta).

A ocorrência de adultos malformados e o prolongamento do último instar larval podem estar associados ao modo de ação do nim, que funciona como regulador de crescimento, com interferência no balanço hormonal do ecdisônio e do hormônio juvenil e atuação direta nos processos de síntese de quitina, ecdise e formação da pupa (MARTINEZ, 2002; BREDA et al., 2011).

Em pesquisas desenvolvidas com 1º e 4º instares de *C. sanguinea* por Cosme et al. (2007), que utilizaram tratamentos com Nim-I-Go a 50 e 100 mg L⁻¹ e Souza (2010) observaram alterações morfológicas e mortalidade de larvas de 100% de 2º instar dessa joaninha, quando submetidas a 0,0148 µg mL⁻¹ de i.a. de óleo de nim na formulação comercial DalNeem[®]. Venzon et al. (2007) observaram efeitos letais e subletais sobre a joaninha *Eriopis connexa* (German, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae), nas concentrações 0,25 e 0,5% de extrato de nim.

Lixa (2013) estudando a Bioecologia de joaninhas predadoras em sistemas orgânicos, e o efeito de defensivos alternativos verificou redução da viabilidade ovos, com o uso dos produtos Natuneem[®] a 2%, Nim-I-Go[®] a 2% aplicados sobre ovos de *C. maculata* e deformações nas asas em adultos. Souza (2014) avaliando o efeito Letal de produtos Fitossanitários utilizados na agricultura orgânica sobre o predador *E. connexa*, verificou que calda bordalesa a 1% e a mistura dos extratos botânicos alho, fumo, citronela e pimenta malagueta a 8% não causaram toxicidade as fases larvais, pupa e adultos em testes de laboratório.

Segundo Ribeiro et al. (2009), apesar de inseticidas botânicos à base de pó-de-fumo e de nim serem de origem natural, faz-se necessária a avaliação da seletividade desses compostos sobre a fauna benéfica dos agroecossistemas. A prospecção de novos

bioativos vegetais e a avaliação da sua potencialidade de utilização no manejo integrado de insetos-praga deverão ser precedidas de testes de toxicidade sobre os inimigos naturais. Assim, a partir dos resultados obtidos, recomenda-se precaução na utilização desses inseticidas botânicos. Neste sentido, os inseticidas botânicos precisam ser mais estudados, de modo a conhecer seu modo de ação sobre os inimigos naturais presentes no agroecossistemas.

3. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AGROFIT. Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Azamax, composição, indicações de uso e dose. Brasília: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons!/ap_produto_form_detalhe_cons?p_id_produto_formulado_tecnico=8413&p_tipo_janela=NEW. Acesso em: 02 julho, 2017.

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003, 44p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 85p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).

ARNASON, J.T.; PHILOGENE, B. J. R; MORAND, P. **Insecticide of plant origin**. Washington, DC: American Chemical Society, 1990.214p.

ARAÚJO JÚNIOR, J. M. **Seleção de fungos entomopatogênicos associados ao óleo de nim para o controle do pulgão *Lipaphis erysimi* (kalt.) (Hemiptera: Aphididae) em couve**. 2008. 67p. Dissertação Mestrado - Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

BAHLAI, C. A.; XUE, Y.; MCCREARY, C. M.; SCHAAFSMA, A. W.; HALLETT, R. H. Choosing organic pesticides over synthetic pesticides may not effectively mitigate environmental risk in soybeans. **Plos One**, v. 5, n. 6, 2010.

BANDEIRA, R. A.; LIMA, R. A. Efeito do extrato etanólico dos frutos de *Solanum grandiflorum* Ruiz sobre *Fusarium oxysporum* Kühn in vitro. **Saúde e Pesquisa**, v. 6, n. 1, 2013.

BARBAGALLO, S.; CRAVEDI, P.; PASQUALINI, E.; PATTI, I. **Aphids of the principal fruit-bearing crops**. Bayer S.p.A., Milan, 1997. 214p.

BETTIOL, W.; GHINI, R. Proteção de plantas em sistemas agrícolas alternativos. 2001, p. 1-13. In: MICHEREFF, S. J.; BARROS, R. **Proteção de Plantas na Agricultura Sustentável**. Recife: UFRPE, 2001, 368p.

BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. 2 ed. Chichester: Wiley. 2000. 476p.

BOTTI, J. M. C.; HOLTZ, A. M.; DE PAULO, H. H.; FRANZIN, M. L.; PRATISSOLI, D.; PIRES, A. A. Controle alternativo do *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) com extratos de diferentes espécies de plantas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, 2015.

BRASIL. Lei 10.831, de 23 de dezembro de 2003. Dispõe sobre a agricultura orgânica e dá outras providências. **Diário Oficial da República Federativa do Brasil**, Brasília, DF, 24 dez. 2003. Seção 1, p. 8-9.

BREDA, M. O., DE OLIVEIRA, J. V., MARQUES, E. J., FERREIRA, R. G., & SANTANA, M. F. Inseticidas botânicos aplicados sobre *Aphis gossypii* e seu predador *Cycloneda sanguinea* em algodão-colorido. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 46, n.11, p. 1424-1431, 2011.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. Andover: Intercept, 1995. 915p.

CARNEIRO, S. M. DE T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. DA C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathology**, v. 33, n. 1, p. 34-39, 2007.

CARNEIRO, S. M. T. P. G. Efeito do Nim (*Azadirachta indica*) sobre oídio e antracnose. **Informe da Pesquisa nº 155**, IAPAR, agosto, 2008.

CIVIDANES, F. J. Exigências térmicas de *Brevicoryne brassicae* e previsão de picos de populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 561-566, 2003.

COSME L. V.; CARVALHO G. A.; MOURA A. P. Efeitos de inseticidas botânicos e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 74, n. 3, p. 251-258, 2007.

COSTA, R. R.; DOS REIS FIGUEIRA, A.; RABELO FILHO, F. D. A. C.; DE ALMEIDA, J. E. M.; DE CARVALHO FILHO, J. L. S.; OLIVEIRA, C. L. Controle da disseminação de vírus por meio de vetores na cultura da batata. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 591-596, 2010.

COSTA LIMA, A. M. Família Coccinellidae. In: COSTA LIMA, A. **Insetos do Brasil**. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, 8º Tomo, Capítulo 77- Coleópteros, 2ª Parte, 1953. p. 283-303. (Série Didática nº 10).

CORREA, L.R.B. **Interação trófica entre cultivares de algodoeiro colorido, *Aphis gossypii* Glöver, 1877 (Hemiptera: Aphididae), *Harmonia axyridis* (Pallas, 1773) E *Eriopis connexa* (German, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae)**. 115f. 2011. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias-Unesp, Jaboticabal, SP.

CLOYD, R.A. Natural indeed: are natural insecticides safer and better than conventional insecticides? **Illinois Pesticide Review**, v.17, n.3, p.1-3, 2004.

- DEV, S. **Insecticides of natural origin**. Amsterdam: Harwood Academic Publ., 1997. 352p.
- DEVI, P. B.; SINGH, T. K. Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae). **Entomological Research**, v. 37, n. 2, p. 81-85, 2007
- DESNEUX, N.; DECOURTYE, A.; DELPUCH, J.M. The sublethal effects of pesticides on beneficial arthropods. **Annual Review of Entomology**, v.52, p.81-106, 2007.
- DESNEUX, N.; O'NEIL, R. J. Potential of an alternative prey to disrupt predation of the generalist predator, *Orius insidiosus*, on the pest aphid, *Aphis glycines*, via short-term indirect interactions. **Bulletin of Entomological Research**, v. 98, n. 6, p. 631-639, 2008.
- FERREIRA, E. C. B. Uso de nim no controle de *Alphitobius Diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae) em vagens de amendoim armazenado. **Monografia**. 34 f. 2012. Universidade Estadual da Paraíba, Campina Grande, PB.
- FERREIRA, E. B; GONÇALVES, S. G.; BICHO, C. de L. Eficiência de produtos à base de nim aplicados em vagens de amendoim armazenado, sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer) (Coleoptera: Tenebrionidae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 2, p. 07-09, 2014.
- FOSTER, S. P.; DENHOLM, I.; DEVONSHIRE, A. L. The ups and downs of insecticide resistance in peach-potato aphids (*Myzus persicae*) in UK. **Crop Protection**, v.19, p. 873-879, 2000.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; E. BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S. OMOTO, C. **Entomologia Agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- GASSEN, D. N. **Controle biológico de pulgões do trigo**. Passo Fundo: EMBRAPA-CNPT, 1988. 13p. (EMBRAPA-CNPT. Documentos, 3).
- GRAVENA, S. O controle biológico na cultura algodoeira. **Informe Agropecuário**, v. 9, n. 1, p. 3-15. 2003.
- GONTIJO, L. M.; CELESTINO, D.; QUEIROZ, O. S.; GUEDES, R. N. C.; PICANÇO, M. C. Impacts of azadirachtin and chlorantraniliprole on the developmental stages of pirate bug predators (Hemiptera: Anthocoridae) of the tomato pinworm *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Florida Entomologist**, v. 98, n. 1, p. 59-64, 2015.
- HAZZARD, R. V.; FERRO, D. N.; VAN DRIESCHE, R. G.; TUTTLE, A. F. Mortality of eggs of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae) from predation by *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Environmental Entomology**, v. 20, p. 841-848, 1991.

- HODEK, I. **Biology of Coccinellidae**. Prague: Academy of Sciences, 1973. 260p.
- HODEK, I.; EVANS, E. W. Food relationships. In: HODEK, I.; VAN EMDEN, H. F.; HONEK, A. (eds.). **Ecology and behaviour of the ladybug beetles (Coccinellidae)**. West Sussex, Blackwell Publishing, 2012. pp 141-274.
- HOLTZ, A. M., RONDELLI, V. M., CELESTINO, F. N., BESTETE, L. R., DE CARVALHO, J. R. **Pragas das brássicas**. Colatina, ES: IFES. 2015.230p.
- ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.
- KATHRINA, G. A.; ANTONIO, L. O. J. Controle biológico de insetos mediante extractos botánicos. In: CARBALL, M.; GUAHARY, F. (Ed.) **Control biológico de plagas agrícolas**. Managua: CATIE, 2004.p. 137-160. (Serie Técnica. Manual Tecnico/CATIE, 53).
- KASPROWICZ, L.; MALLOCH, G.; PICKUP, J.; FENTON, B. Spatial and temporal dynamics of *Myzus persicae* clones in fields and suction traps. **Agricultural and Forest Entomology**, v.10, p. 91- 100, 2008.
- LIXA, A.T. **Bioecologia de joaninhas predadoras em sistema orgânico diversificado e efeitos de defensivos alternativos sobre *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) em laboratório**. 110p. 2013. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- LIXA, A. T.; CAMPOS, J. M.; RESENDE, A. L.; SILVA, J. C.; ALMEIDA, M. M. T. B.; AGUIAR-MENEZES, E. L. Diversidade de Coccinellidae (Coleoptera) em plantas aromáticas (Apiaceae) como sítios de sobrevivência e reprodução em sistema agroecológico. **Neotropical Entomology**, v. 39, p. 354-359, 2010.
- LIU, T. X.; SPARKS JR. A. N. **Aphids on cruciferous crops identification and management**.12p. 2016. Disponível em: <http://agriLifebookstore.org>. Acesso em: 15 mai. 2016.
- LOVATTO, P. B.; GOETZE, M.; THOMÉ, G. C. H. Efeito de extratos de plantas silvestres da família Solanaceae sobre o controle de *Brevicoryne brassicae* em couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*). **Ciência Rural**, v. 34, p. 971-980, 2004.
- LUCAS, E.; LABRECQUE, C.; CODERRE, D. *Delphastus catalinae* and *Coleomegilla maculata lengi* (Coleoptera: Coccinellidae) as biological control agents of the greenhouse whitefly, *Trialeurodes vaporariorum* (Homoptera: Aleyrodidae). **Pest Management Science**, v. 60, p. 1073-1078, 2004.
- MACHADO, R. T.; ROSALINO, P.; RIBEIRO, L. D. P.; JUNGES, E.; MANZONI, C. G.; & DEQUECH, S. B. Avaliação da bioatividade de extratos vegetais sobre *Diabrotica speciosa* em casa de vegetação. **Revista Brasileira de Agroecologia**, v. 1, n. 2, p. 1-4, 2007.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M.; SILVA, R. A.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N.; SOUZA-NETO, M. A. Atividade inseticida in vitro do óleo de sementes de nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 1-7, 2010.

MARINGONI, A. C. Doenças das crucíferas. In: KIMATI, H.; AMORIM, L.; REZENDE, A. M.; BERGAMIN FILHO, A.; CAMARGO, L. E. A. (Org.). **Manual de fitopatologia: doenças de plantas cultivadas**. 4. ed. São Paulo: Agronômica Ceres, 2005. p. 297-306.

MARTINEZ, S.S. (Ed.). **O nim - *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: IAPAR, 2002. 142p.

MEDINA, P.; BUDIA, F.; DEL ESTAL, P.; VINUELA, E. Influence of azadirachtina botanical insecticide, on *Chrysoperla carnea* (Stephens) reproduction: toxicity and ultrastructural approach. **Journal of Economic Entomology**, v. 97, n. 1, p. 43-50, 2004.

MELO, R. L. **Alternativas de controle de afídeos no cultivo da couve (*Brassica oleracea*) com ênfase a *Lipaphis erysimi* (Kalt.) (Hemiptera: Aphididae)**. 2012. 145p. Tese de Doutorado. Tese (Doutorado em Entomologia Agrícola) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife.

MINAS, R. S.; RONDELLI, V. M.; MELO D. F.; OLIVEIRA, C. M. R.; BESTETE, L. R. **Solanáceas: Abordagem das Principais Culturas e Suas Pragas**. Brasília: Editoras Kiron, 2013. 268p.

MILLÉO, J.; DE SOUZA, J. M. T.; CASTRO, J. P.; CORRÊA, G. H. Coccinelídeos (Insecta, Coleoptera) presentes em hortaliças (Ponta Grossa - PR). **Publicação da UEPG. Ciências Exatas e da Terra, Ciências Agrárias e Engenharias**, v. 13, n. 2, p. 71-80, 2007.

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G. Temperature-dependent biological and demographic parameters of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 2, p.1-9, 2017.

MONDÉDJI, A. D.; KASSENEY, B. D.; NYAMADOR, W. S.; ABBEY, G. A.; AMÉVOIN, K.; KETOH, G. K.; GLITHO, I. A. Effets d'extrait hydroéthanolique de feuilles de neem (*Azadirachta indica* A. Juss) sur *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae) et *Lipaphis erysimi* (Hemiptera: Aphididae) dans la production du chou au Sud du Togo. **International Journal of Biological and Chemical Sciences**, v. 10, n. 4, p. 1666-1677, 2016.

MORALES-RAMOS, J. A.; ROJAS, M. G. Temperature-dependent biological and demographic parameters of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae). **Journal of Insect Science**, v. 17, n. 2, p.1-9, 2017.

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, M. E.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C.; VENZON, M. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 89-120, 2006.

- MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss): múltiplos usos. **Acta Farmacêutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 139-48, 2005.
- MOURA, A. P. GUIMARÃES, J. A, FERNANDES, F.R. FILHO, M. M. **Recomendações técnicas para o manejo integrado de pragas da cultura do alho**. Circular técnico. Embrapa, Brasília, 12p, 2013.
- MUNYANEZA, J.; OBRYCKI, J. J. Development of three populations of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) feeding on eggs of Colorado potato beetle (Coleoptera: Chrysomelidae). **Environmental Entomology**, v. 27, n. 1, p. 117-122, 1998.
- NAUMANN, K.; ISMAN, M. B. Toxicity of a neem (*Azadirachta indica* A Juss) insecticide to larval honey bees. **American Bee Journal**, v. 135, n. 7, p. 518-520, 1996.
- NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. T.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA/CNPAF, 2003. 12p. (Circular Técnica, 62).
- NG, J. C. K.; PERRY, K. L. Transmission of plant viruses by aphid vectors. **Molecular Plant Pathology**, v. 5, n. 5, p. 505-511, 2004.
- OBRYCKI, J. J.; KRING, T. J. Predaceous Coccinellidae in biological control. **Annual Review of Entomology**, v. 43, p. 295-321, 1998.
- PATT, J. M.; HAMILTON, G. C.; LASHOMB, J. H. Impact of strip insectary intercropping with flowers on conservation biological control of the Colorado potato beetle. **Advances in Horticultural Science**, v. 11, p. 175-181, 1997.
- RANDO, J. S. S.; LIMA, C. B.; BATISTA, N. A.; FELDHAUS, D. C.; LOURENÇO, C. C.; POLONIO, V. D.; ÁVILA, R. R.; MALANOTTE, M. L. Extratos vegetais no controle dos afídeos *Brevicoryne brassicae* (L.) e *Myzus persicae* (Sulzer). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 503-512, 2011.
- REGAN, K., ORDOSCH, D., GLOVER, K. D., TILMON, K. J., & SZCZEPANIEC, A. Effects of a pyrethroid and two neonicotinoid insecticides on population dynamics of key pests of soybean and abundance of their natural enemies. **Crop Protection**, v. 98, p. 24-32, 2017.
- RIBEIRO, L. P.; DEQUECH, S.T.B.; RIGO, D.S.; FERREIRA, F.; SAUSEN, C.D.; STURZA, V.S.; CAMERA, C. Toxicidade de inseticidas botânicos sobre *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **Revista da FZVA**, v. 16, n. 2, p. 246-254. 2009.
- SACRAMENTO, F. Z. **Criação de joaninhas afidófaga no Centro Integrado de Manejo de Pragas (CIMP), UFRRJ**. 2016. 28p. Relatório de Estágio Supervisionado (Graduação em Agronomia) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- SALVADORI, J. R.; PEREIRA, P. R. V. S.; SILVA, M. T. B. Manejo de pulgões. **Revenue Culture**, v. 75, n. 1, p. 32-34, 2005.

- SHANNAG, H.S.; CAPINERA, J. L.; FREIHAT, N. M. Efficacy of different neem-based biopesticides against green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera:Aphididae). **International Journal of Agricultural Policy and Research**, v.2, n.2, p. 061-068. 2014.
- SCHALLER, A. **Induced plant resistance to herbivory**. Hardeover: Springer, 2008. 464p.
- SCHOONHOVEN, L. M.; LOON, J. J. A.; DICKE, M. **Insect-plant biology**. 2.ed. New York: Oxford. 2005. 421p.
- SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. 5. ed. v.1. Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, 2003, p. 903-918.
- SOUZA, T. S. Avaliação do efeito letal de produtos fitossanitários alternativos utilizados na agricultura orgânica sobre o predador *Eriopis connexa* (Germar, 1824). 40p. 2014. **Monografia (Graduação em Agronomia)** - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- SOUZA, C. R de. **Impacto de inseticidas sobre artrópodes do dossel e da superfície do solo na cultura da melancia**. 2010. 66p. Tese de Doutorado. (Produção Vegetal), Universidade Federal do Tocantins, Gurupi.
- SOUZA, J. L.; RESENDE, P. **Manual de horticultura orgânica**. Viçosa. Aprenda Fácil, 2003. 564p.
- VAN EMDEN, H. F. **Handbook of agricultural entomology**. Oxford: Wiley-Blackwell, 2013. 311p.
- VENZON M.; ROSADO M. C.; PALLINI A.; FIALHO A.; PEREIRA C. J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, p. 627-631, 2007.
- VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Org). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000.113-128p.
- VIDIGAL, D. S.; BRASILEIRO, B. G.; DIAS, D. C. F. S.; ALVARENGA, E. M.; BHERING, M. C. Germinação e morfologia do desenvolvimento pós-seminal de sementes de nim-indiano (*Azadirachta indica* A. Juss. – Meliaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, v. 29, n. 3, p. 39-46, 2007.
- ZANUNCIO, J. C.; MOURÃO, S. A.; MARTÍNEZ, L. C.; WILCKEN, C. F.; RAMALHO, F. S.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J. E. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). **Scientific reports**, v. 6, p.1-8, 2016.
- WILLER, H.; KILCHER, L. (Ed.). **The world of organic agriculture: statistics and emerging trends**. Frick: Research Institute of Organic Agriculture (FiBL); Bonn: International Federation of Organic Agriculture Movements (IFOAM), 2012.

**CAPÍTULO I - AÇÃO INSETICIDA DE EXTRATOS DE FUMO E NIM SOBRE
Myzus persicae (Sulzer) (HEMIPTERA: APHIDIDAE).**

RESUMO

O pulgão verde, *Myzus persicae* é uma das principais espécies de afídeos que causam danos às culturas agrícolas. Entre os métodos utilizados para controle de pulgões na agricultura, o químico é o mais comum. Na busca de medidas alternativas ao uso do controle químico, à utilização de extratos e substâncias obtidas de plantas estão demonstrando eficiência no controle de pragas. Desta forma, o objetivo deste estudo foi determinar o potencial como bioinseticidas, via aplicação tópica, de extratos de folhas de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) produzidos a partir da concentração alcoólica de seus princípios bioativos em rotavapor, sendo diluídos em água em diferentes concentrações, e a sua toxicidade (CL₅₀ e CL₉₀) para *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) em condições de laboratório. A criação de *M. persicae* foi feita em discos de folhas de couve mantidas em câmaras climatizadas (25 ± 2°C, 60 ± 10% de UR e fotofase de 12h). As folhas de nim e fumo foram adquiridos no CEPAO/PESAGRO-RIO. Estas foram submetidas à extração alcoólica com álcool etílico hidratado a 92° INPM, por 24 horas, e desse extrato foram realizadas diluições. As soluções aquosas dos extratos foram preparadas em oito concentrações: 0,25%; 0,5%; 0,75%; 1,0%; 2,5%; 5,0%; 10,0%; 15,0%, acrescentando o espalhante adesivo Tween[®] 80 (0,05%) em água destilada. A testemunha consistiu apenas de água destilada mais espalhante adesivo Tween[®] 80 (0,05%). As pulverizações foram efetuadas com um pulverizador manual de 500 mL previamente calibrado, garantindo a aplicação de 1,5± 0,5 mg de calda cm², de acordo com a metodologia estabelecida pela IOBC. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2 x 8 ,sendo, dois extratos de folhas (fumo e nim) x oito concentrações mais a testemunha, contendo dez repetições, constituídos de uma placa de Petri por repetição, com 10 pulgões ápteros/placa. Foram realizadas avaliações 24, 48 e 72 horas após montagem dos experimentos. As variáveis foram submetidas à análise no programa estatístico R, utilizando o pacote *ExpDes.pt* e a função *nls* para a análise de variância e de regressão não linear, com uso do pacote *ecotoxicology* para a análise de Probit. Os extratos aquosos do nim e do fumo nas diferentes concentrações tem efeito inseticida sobre *M. persicae*, e provoca redução do número de ninfas produzidas 72 horas após a aplicação tópica, à medida que aumentou a concentração. O extrato de nim apresentou menor valor para as CL₅₀ e CL₉₀ do que o do fumo, com uma razão de toxicidade de duas a quase três vezes maior em relação ao fumo. Os dois extratos de fumo e nim tem efeito inseticida sobre os adultos de pulgões, e reduz a produção ninfas, sendo indicado para controle nas concentrações acima de 0,5% do extrato alcoólico preparado das folhas.

Palavras-chave: Pulgão verde, inseticidas botânicos, *Nicotiana tabacum*, *Azadirachta indica*, toxicidade, concentração letal.

ABSTRACT

The green aphid, *Myzus persicae* is one of the main species of aphids that cause damage to agricultural crops. Among the methods used to control aphids in agriculture, the chemical is the most common. In the search for alternative measures to the use of agrochemicals, the use of extracts and substances obtained from plants, are demonstrating the efficiency without pest control. Thus, the objective of this study was to determine the potential as bioinsecticides, via topical application, of extracts of leaves of tobacco (*Nicotiana tabacum*) and neem (*Azadirachta indica*) produced from the alcoholic concentration of its bioactive principles in rotavapor, being diluted in Water in different concentrations, and their toxicity (CL₅₀ and CL₉₀) to *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) under laboratory conditions. The creation of *M. persicae* was made on cabbage leaf discs kept in air conditioned chambers ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ HR; of 12h). As neem leaves and smoke were purchased not CEPAO/PESAGRO-RIO. These were submitted to extraction with ethyl alcohol hydrated at 92°INPM, for 24 hours, and from this extract dilutions were performed. A solution of neem leaf extracts and smoke at eight concentrations: 0.25%; 0.5%; 0.75%; 1.0%; 2.5%; 5.0%; 10.0%; 15.0% and adding the Tween[®] 80 spreader (0.05%) in distilled water. The control was only distilled water plus the Tween[®] 80 spreader (0.05%). The spraying was done with a 500 mL hand-held spray previously calibrated, guaranteeing an application of 1.5 ± 0.5 mg of cm^{-2} in accordance with a methodology established by IOBC members. The experimental design was completely randomized, with a 2 x 8 factorial arrangement (two extracts of leaves (smoke and neem) with eight concentrations plus the control), containing 10 replicates, consisting of one petri dish per replicate (10 aphids / plaque). Evaluations were performed 24, 48 and 72 hours after assembly of the experiments. As variables were submitted to the analysis without computational application R, using the package *ExpDes.pt* and a function for an analysis of variance and nonlinear regression, using the *ecotoxicological* package for a Probit analysis. Aqueous neem and smoke extracts at different concentrations had an insecticidal effect on *M. persicae* and caused a reduction in the number of nymphs produced 72 hours after topical application as the concentration increased. Neem extract presented lower values for CL₅₀ and CL₉₀ than did tobacco, with a toxicity ratio of two to almost three times greater in relation to smoking. The two extracts of smoke and neem have insecticidal effect on adults of aphids, and reduces the production of nymphs, being indicated for control in concentrations above 0.5% of the prepared alcoholic extract of the leaves.

Key words: Green peach aphid, botanical insecticides, *Nicotiana tabacum*, *Azadirachta indica*, toxicity, lethal concentration.

1. INTRODUÇÃO

O pulgão verde, *Myzus persicae* (Sulzer, 1776) (Hemiptera: Aphididae) é uma das principais espécies de afídeos que causam danos às culturas agrícolas. Além de danos diretos, resultantes da sucção contínua da seiva das plantas, essa espécie pode atuar de modo indireto como vetor de várias viroses, impedindo o desenvolvimento da planta (GALLO et al., 2002). Esta praga está relacionada como vetor de mais de 120 doenças de plantas (BLACKMAN & EASTOP, 2000; HOLTZ et al., 2015).

Entre os métodos utilizados para controle de pulgões na agricultura, o químico é o mais usual. Porém, o uso intensivo de agrotóxicos, principalmente os de origem orgânica sintética, como organofosforados, piretróides, carbamatos e neonicotinóides, e alguns usados mesmo sem registros para uso em algumas culturas pelo Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA), pode provocar o ressurgimento de populações de pragas resistentes (GODONOU et al., 2009). A maioria desses produtos possui amplo espectro de ação e persistência no ambiente, prejudicando assim a saúde do consumidor e dos profissionais envolvidos nos processos de produção, além de ter efeitos tóxicos aos organismos não-alvos, como inimigos naturais das pragas, polinizadores, animais silvestres, somados a contaminação do solo e da água (BRITO et al., 2004; SILVA et al., 2009; BOTTI et al., 2015)

Na busca de medidas alternativas ao uso de agrotóxicos que apresentam um alto custo sócio-econômico, pesquisas direcionadas à utilização de extratos e substâncias obtidas de plantas estão demonstrando uma eficiência satisfatória no controle de pragas. Entre as principais plantas das quais são obtidas substâncias com propriedades inseticidas, destacam-se as que pertencem aos gêneros *Nicotiana* (Solanaceae), produtoras de nicotina e nornicotina; *Derris*, *Lonchocarpus*, *Tephrosia* e *Mundulea* (Leguminosae), produtoras de rotenoides; *Chrysanthemum* (Asteraceae), cinamomo ou santa-barbara (*Melia azedarach*) produtoras de piretrinas e a *Azadirachta* (Meliaceae), produtoras de azadiractina (LAGUNES & RODRÍGUEZ, 1992; BOTTI et al., 2015).

Entre as espécies de planta mais difundidas no controle de pragas se destaca a *Azadirachta indica* A. Juss, conhecida no Brasil como nim. A azadiractina é um tetranotriterpenóide (limonóide), solúvel em água e em álcool, sensível aos raios ultravioleta, sendo eliminada do ambiente em cerca de 20 dias (MARTINEZ, 2002). Este é o principal composto ativo do nim sendo responsável pelos efeitos tóxicos aos

insetos, encontrado nas sementes, na casca e nas folhas dessa planta, (SCHMUTTERER, 1990; CARNEIRO et al., 2007; DÉLA et al., 2014).

A utilização dos produtos derivados de *A. indica* tem vantagem de ser pouco tóxicos ao homem e ser rapidamente degradados no solo e nas plantas (ISMAN, 2006). Contudo em relação aos inimigos naturais, os efeitos são variáveis, mas, de maneira geral, são menos suscetíveis do que os insetos fitófagos, devido, principalmente, ao seu modo de ação (AKOL et al., 2002; VENZON et al., 2007).

Por sua vez a planta de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) é utilizada no controle de insetos desde 1690, sendo sua principal substância ativa denominada de nicotina e classificada como inseticida (AGUIAR-MENEZES, 2005). Segundo Lorenzi (2002), o fumo é empregado na medicina popular pelas suas propriedades narcótica, sedativa, diaforética, emética e vermífuga. Ainda segundo o autor, é utilizado como inseticida agrícola, especialmente na horticultura e floricultura.

Conforme a Instrução Normativa nº17, de 18/06/2014 do MAPA, que dispõe sobre o uso de substâncias ativas e práticas permitidas para manejo, controle de pragas e doenças nos vegetais e tratamentos pós-colheita nos sistemas orgânicos de produção, extratos de plantas e outros preparados fitoterápicos de plantas não utilizadas na alimentação humana poderão ser aplicados nas partes comestíveis desde que existam estudos e pesquisas que comprovem que não causam danos à saúde humana ou ao meio ambiente, e aprovado pelo Organismo de Avaliação da Conformidade Orgânica (OAC) ou pela Organização de Controle Social (OCS) (MAPA, 2016). Além disso, o uso do extrato de fumo, piretro, rotenona e azadiractina naturais, para uso em qualquer parte da planta, deverá ser autorizado pelo OAC ou pela OCS, sendo proibido o uso de nicotina pura.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar o potencial como bioinseticida, em aplicação tópica, de extratos de folhas de fumo (*N. tabacum*) e nim (*A. indica*) produzidos a partir da concentração alcoólica de seus princípios bioativos em rotavapor e diluídos em água em diferentes concentrações, e a sua toxicidade para *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae), em condições de laboratório.

2. MATERIAL E METODOS

O experimento foi conduzido em laboratório, no Centro Integrado de Manejo de Pragas (CIMP), localizado no Departamento de Entomologia e Fitopatologia (DEnF), pertencente ao Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde (ICBS), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, localizada no município de Seropédica (UFRRJ).

2.1. Procedências dos Pulgões

Pulgões *M. persicae* foram coletados sobre hortaliças infestadas na área de cultivo orgânico no Módulo de Produção Intensiva de Hortaliças do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) também conhecido como Fazendinha Agroecológica km 47, situado no município de Seropédica, RJ (22° 45' S, 43° 41' W e 33 m de altitude) (ALMEIDA et al., 2003; NEVES et al., 2005). Outra coleta de pulgões *M. persicae* foi realizada na área de produção de hortaliças orgânicas do Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO) (22° 45'S, 43° 41'W e 34 m altitude), da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro (PESAGRO-RIO), localizado também em Seropédica, RJ.

As folhas das hortaliças infestadas com pulgões foram coletadas e levadas para o laboratório no CIMP. Parte dos indivíduos foi mantida para a criação da espécie de interesse em condições de laboratório e outra foi acondicionada em frasco de vidro com álcool 70% e enviados para o taxonomista do DEnF (Aurino Florencio de Lima), para identificação conclusiva da espécie.

2.2. Criação de *Myzus persicae*

Um plantio de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) cv. Manteiga foi estabelecido em canteiros na área experimental do DEnF, sem nenhum tratamento fitossanitário. Destas plantas foram retiradas folhas que foram limpas e preparadas para servir de alimento aos pulgões, tanto na manutenção da criação como na condução dos bioensaios, ambos em condições de laboratório no CIMP.

A criação de *M. persicae* foi feita em placas de Petri (20 x 1,5 cm), forradas com discos de folha de couve (15 cm de diâmetro) mantidos sobre papel filtro umedecidos com água destilada e fechadas com plástico transparente de PVC. As placas foram

mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de UR e fotofase de 12 horas) sendo conferido com Termohigrógrafo. A cada três dias os pulgões foram transferidos para novos discos de couve, com uso de pincel de cerdas finas e macias.

2.3. Obtenção dos Extratos Botânicos

Os extratos de nim e de fumo foram feitos a partir das folhas medianas dessas espécies de plantas, cultivadas na área experimental do CEPAO/PESAGRO-RIO. No Laboratório de Extratos de Plantas do CEPAO, as folhas foram lavadas e submetidas à secagem em estufa ventilada à 40°C até peso constante. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas até a obtenção de um pó fino e homogêneo, que foi usado para a extração alcoólica dos princípios bioativos dessas plantas. A extração consistiu em adicionar 150g do pó seco em 1 litro do solvente (álcool etílico hidratado a 92°INPM), deixando essa mistura em repouso por 24 horas a temperatura ambiente e na ausência de luz. Após este período, a mistura foi coada em tecido tipo *voile* e 500 ml da solução obtida foi adicionada em balão de vidro, o qual foi encaixado no rotavapor (Fisatam[®]) e imergido até cobrir a linha da solução em água a 60°C dentro da cuba em banho maria (Fisatam[®]). Em seguida o rotavapor foi ligado e deixado na rotação de 20 rpm. Ao iniciar a evaporação do álcool no rotavapor, a bomba de vácuo (Prismatec[®]) foi ligada a 550 mm Hg, para a concentração dos princípios bioativos e evaporação de 75% do álcool da solução do extrato vegetal. Após este processo, os extratos alcoólicos concentrados obtidos foram acondicionados em frascos de vidro de 100 ml de cor âmbar, os quais foram embalados com papel alumínio e armazenados a baixa temperatura -20°C (em freezer), para posterior utilização nos bioensaios.

2.4. Bioensaios

Folhas de couve foram retiradas das plantas cultivadas em canteiros no DEnF e levadas ao laboratório, onde foram cortadas em discos de 4 cm de diâmetro, os quais foram submetidos a sanitização com hipoclorito de sódio a 2,5% durante três minutos, em seguida lavados com água destilada, e secos com papel toalha (BOTTEI et al., 2015). Posteriormente, 10 adultos ápteros de *M. persicae* foram transferidos, com auxílio de um pincel, para cada disco de folha de couve. Estes discos foram acondicionados em placas de Petri (5,0 x 1,2cm), sobre disco de papel filtro umedecido com água destilada,

em seguida as placas foram mantidas fechadas com plástico de PVC transparente, para evitar a fuga dos insetos até a aplicação dos extratos.

Foram usados oito concentrações, referentes às diluições dos extratos em água destilada: 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 2,5%, 5%, 10% e 15%, sendo estes determinados após realização de pré-teste com as plantas testadas. As soluções aquosas dos extratos de folhas de nim e fumo foram preparados nas concentrações acima, acrescidos de espalhante adesivo Tween[®] 80 (0,05%) e completando o volume até 100 ml com água destilada. Em seguida, a mistura foi agitada manualmente por 30 segundos, antes de ser utilizada na pulverização sobre os insetos. Cada uma das concentrações dos extratos aquosos foi pulverizada sobre os adultos ápteros dos pulgões dispostos no disco de folha de couve acondicionado em placa de Petri (10 pulgões/placa) com 10 repetições por tratamento. A testemunha consistiu apenas de água destilada (0% de concentração de extrato) mais espalhante adesivo Tween[®] 80 (0,05%), pulverizada sobre os pulgões.

As pulverizações foram efetuadas com um pulverizador manual com volume de 500 mL, previamente calibrado antes da aplicação dos tratamentos, garantindo a aplicação de $1,5 \pm 0,5$ mg de calda cm^{-2} , de acordo com a metodologia estabelecida pela IOBC – ‘International Organization for Biological Control of Noxious Animals and Plants’ (HASSAN, 1997) e utilizada por Cosme (2007). Após a pulverização dos tratamentos, as placas de Petri com os pulgões tratados foram mantidas fechadas com plástico transparente de PVC, acondicionada em câmaras climatizadas ($25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12h). Observações diárias dos pulgões tratados foram realizadas 24, 48 e 72 horas após a pulverização.

Os parâmetros avaliados foram:

- Taxa de mortalidade, expressa em porcentagem, que correspondeu ao número de pulgões mortos sobre o número total de pulgões tratados, multiplicado por 100.
- Capacidade reprodutiva para os pulgões tratados que sobreviveram, sendo contabilizadas e retiradas diariamente, que se referiu ao número acumulativo de ninfas presentes em 24, 48 e 72 horas após a pulverização.

2.5. Análises Estatísticas

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com arranjo fatorial 2×8 [dois extratos de folhas (fumo e nim) com oito concentrações mais a testemunha],

contendo 10 repetições, constituídas de uma placa de Petri por repetição (10 pulgões ápteros/placa).

As variáveis acumuladas em 72 horas referentes à mortalidade dos pulgões tratados e ao número de ninfas originárias dos pulgões tratados, nas oito concentrações de cada extrato e na testemunha, foram submetidas à análise de variância. A comparação das médias foi realizada pelo teste F a 5% de significância dentro de cada concentração, e análise de regressão não linear dentro de cada extrato. A mortalidade nos tratamentos com os extratos botânicos foi corrigida com base na testemunha, de acordo com a fórmula de Abbott (1925): $\text{Mortalidade corrigida (\%)} = (\% \text{ de mortalidade no tratamento} - \% \text{ de mortalidade na testemunha}) \times 100 / (100 - \% \text{ de mortalidade na testemunha})$.

A toxicidade dos extratos (concentração-resposta) de fumo e nim para os adultos ápteros de *M. persicae* foi avaliada pelas concentrações letais CL_{50} (concentração letal capaz de matar 50% população de pulgões em teste) e CL_{90} (concentração letal capaz de matar 90% da população de pulgões em teste) de cada extrato botânico, as quais foram determinadas submetendo os dados de mortalidade desses pulgões obtidos nas diferentes concentrações de cada extrato à análise de Probit. As concentrações letais foram comparadas por meio dos intervalos de confiança a 95% de probabilidade, sendo consideradas diferentes, em caso de não ocorrer sobreposição dos intervalos. A razão de toxicidade foi calculada para o extrato que apresentou menor valor da CL_{50} e CL_{90} , dividindo-se os maiores valores das CLs obtidas para o outro extrato pelos valores correspondentes para àquele extrato.

As análises foram realizadas através do programa estatístico R, utilizando os pacotes *ExpDes.pt* (FERREIRA et al., 2013) e a função *nls* para a análise de variância e de regressão não linear, respectivamente, e o pacote *ecotoxicology* (GAMA, 2015) para a análise de Probit.

3. RESULTADOS

As diferentes concentrações dos extratos de folhas de fumo e nim causaram mortalidade dos adultos ápteros de *M. persicae* após 72 horas da exposição, havendo diferença significativa de mortalidade entre os extratos, dentro de cada concentração ($p < 0,0001$). Houve diferença significativa entre estes nas concentrações 0,5%, 0,75%, 1%, 2,5% e 5%, sendo que a mortalidade causada pelo extrato de nim foi superior à do fumo (Figura 1A). Uma análise minuciosa do comportamento médio dos dados de mortalidade em cada extrato em função das concentrações permitiu evidenciar que os dados apresentaram um ajuste matemático para o modelo exponencial (Figura 1B). Tal fato pode ser confirmado pelo elevado ajuste apresentado pelo coeficiente de determinação e significância dos coeficientes da regressão ($R^2 > 0,96$ e $p < 0,05$).

Esses resultados indicam que a mortalidade dos pulgões aumentou à medida que as concentrações dos extratos aumentaram, com o valor mínimo de 8% e 20% de mortalidade quando os extratos de fumo e nim foram usados, respectivamente, na menor concentração (0,25%), diferindo do controle, chegando a mais de 90% de mortalidade quando esses extratos foram usados, respectivamente, na maior concentração (15%) $p < 0,0001$.

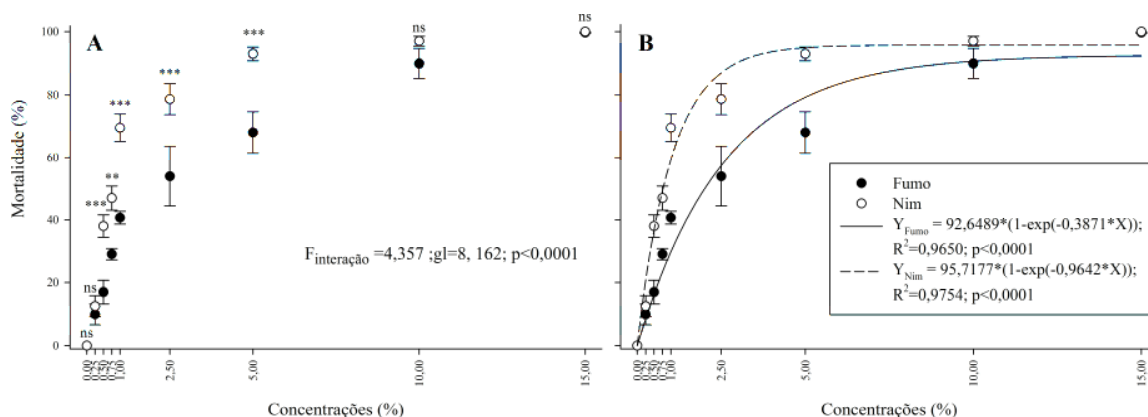


Figura 1. Porcentagem de mortalidade de adultos ápteros de *Myzus persicae* tratados com extratos de fumo e nim em oito concentrações e a testemunha, após 72 horas da pulverização. Médias (\pm erro padrão) acompanhadas de asterisco, dentro de cada concentração, diferem entre si pelo teste F da análise de variância (A). Análise de regressão exponencial da mortalidade de *M. persicae* em função das concentrações, para cada extrato (B). Legendas: ns = Não significativo; ** = Significativo a 0,01; *** = Significativo a 0,001.

A produção de ninfas de *M. persicae* nas 72 horas após a exposição foi sendo reduzida com o aumento das concentrações dos extratos, bem como diferiu entre os extratos testados ($p < 0,0001$) (Figura 2). A produção de ninfas foi significativamente menor quando adultos de *M. persicae* foram tratados com extrato aquoso de nim em comparação ao de fumo, ambos nas concentrações 0,25%, 0,5%, 0,75%, 1% e 5% (Figura 2A). As diferenças proporcionais entre nim e fumo em relação ao número de ninfas produzidas foram de 72,87%, 83,47%, 74,42% e 65,82% para as concentrações 0,25%, 0,5%, 0,75% e 1% de ambos os extratos, respectivamente. A análise dos valores médios de produção de ninfas revelou que os dados apresentaram elevado ajuste ao modelo hiperbólico ($R^2 > 0,94$ e $p < 0,0001$) (Figura 2B), demonstrando que o aumento da concentração dos extratos reduz a produção de ninfas de *M. persicae*, que apresentou em média, mínimo de 4% e 1% de ninfas quando os adultos foram tratados com os extratos de fumo e nim a 15%, respectivamente.

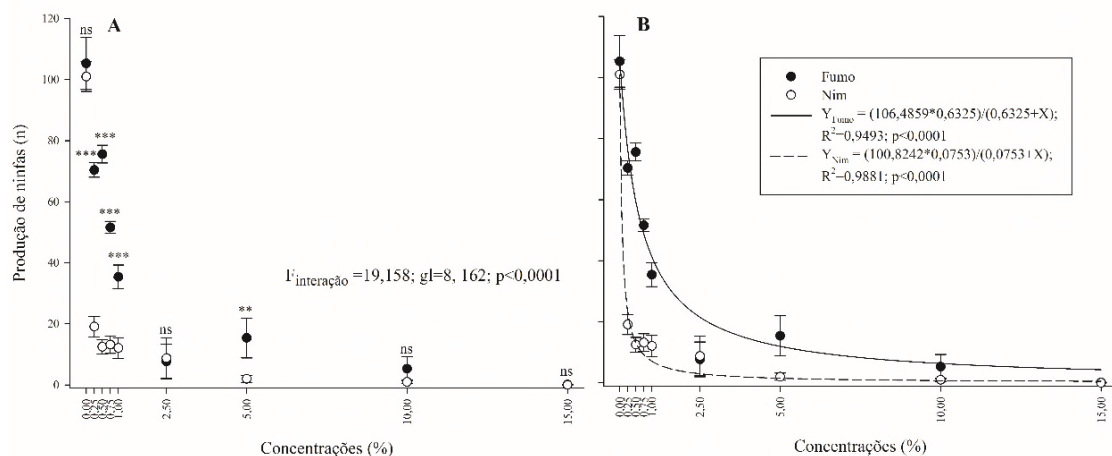


Figura 2. Produção de ninfas de *Myzus persicae* tratados com extratos de fumo e nim, em oito concentrações e a testemunha, após 72 horas da pulverização. Médias (\pm erro padrão) acompanhadas de asterisco, dentro de cada concentração, diferem entre si pelo teste F da análise de variância (A). Análise de regressão hiperbólica da produção de ninfas de *M. persicae* em função das concentrações, para cada extrato (B). Legendas: ns = Não significativo; ** = Significativo a 0,01; *** = Significativo a 0,001.

A análise de Probit para a estimativa das concentrações letais revelou que o extrato de folhas de nim foi mais tóxico para as formas ápteras de *M. persicae* que o do fumo, ou seja, em menor concentração provocou maior mortalidade que o do fumo (Tabela 1), que apresentou valor para as CL_{50} e CL_{90} significativamente superior. A razão de toxicidade para o extrato de nim foi duas a quase três vezes maior em comparação ao de fumo.

Tabela 1. Toxicidade relativa (em concentração-resposta) dos extratos de fumo e nim aplicados topicamente sobre adultos ápteros de *Myzus persicae*, com base na concentração letal (CL) 50 e 90.

Extrato	Inclinação ± EP ¹	CL50 ² [IC95] ³ *	CL90 [IC95]	χ^2 ⁴	P ⁵	RT ⁶
Fumo	1,637±0,148	1,73 [1,45-2,06]b	10,50 [7,94-14,96]b	15,80	0,9547	
Nim	1,886±0,154	0,77 [0,65-0,91]a	3,69 [2,92-4,99]a	10,37	0,7603	2,25-2,84

¹ Inclinação ± erro-padrão da reta de Probit;

² Concentração letal (ml do extrato concentrado/100ml de água);

³ Intervalo de confiança a 95% de probabilidade [inferior – superior];

⁴ Estatística de Chi-quadrado;

⁵ Valor da probabilidade;

⁶ Razão de toxicidade para a CL₅₀ e CL₉₀;

* Intervalo de confiança a 95% de probabilidade [IC95] com a mesma letra não difere entre si devido a sobreposição dos intervalos.

4. DISCUSSÃO

Os extratos aquosos de folhas de nim e fumo, preparados a partir de extrato alcoólico concentrado em rotavapor, apresentaram atividade inseticida sobre adultos ápteros de *M. persicae*, mas a intoxicação via ação de contato mostrou efeito depende da concentração, chegando a causar mortalidade dos adultos superior a 92% na maior concentração (15,0%). Provavelmente a mortalidade dos adultos de *M. persicae* tratados com os extratos de nim e fumo ocorreram, respectivamente, pela ação inseticida da azadiractina (principalmente os isômeros A e B) e nicotina, que são os principais ingredientes ativos dessas plantas (MORDUE & NISBET, 2000; MARTINEZ, 2002; MOSSINI & KEMMELMEIER, 2005; MACIEL et al., 2010).

É possível que a mortalidade dos pulgões tratados com nim tenha sido também causada, pelo menos em parte, pela ação anti-alimentar da azadiractina e salanina (composto presente em menor concentração) (NEVES et al., 2003; MACIEL et al., 2010), a partir do substrato (disco de folhas de couve) contaminado pelos extratos, levando os pulgões à morte por inanição. Valores acima de 90% de mortalidade de adultos de *M. persicae* com extrato aquoso de fumo foram obtidos por Rando et al. (2011), os quais verificaram que extratos de fumo obtidos por extração a quente pela decocção das folhas frescas e extração a frio de folhas secas, na concentração a 10%, pulverizados sobre adultos de *M. persicae* dispostos em disco de folhas de couve, foram eficientes (94,2% de mortalidade) no controle do pulgão 12 horas após a aplicação e causaram 100% de mortalidade em 72h após a pulverização, não diferindo do padrão acefato.

Venzon et al. (2007) observaram que soluções aquosas de extrato de semente de nim a 0,5% (0,05 g L⁻¹ de i.a.) e 1% (0,1 g L⁻¹ de i.a.), preparadas a partir do produto comercial NeemAzal[®] T/S (sem registro no Brasil) causaram mortalidade de adultos de *M. persicae* (55,0±28,72% e 59,1±34,75%, respectivamente) significativamente superior à água (20,0±26,46%), mas não diferiu do acefato (Orthene 750 BR[®]), inseticida sintético organofosforado usado como controle positivo. No entanto, apesar da azadiractina ser encontrada principalmente nas sementes e em menor quantidade nas folhas do nim (MORDUE & NISBET, 2000), é difícil depreender comparações visto que no presente estudo não foi realizada análise fitoquímica dos extratos concentrados das folhas de nim, a qual poderia nos fornecer dados qualitativos sobre a presença de

triterpenóides, a exemplo da azadarachtina, bem como dados quantitativos, como a concentração desse metabólico secundário.

A princípio, os extratos alcoólicos do nim obtidos no presente estudo foram concentrados em rotavapor para garantir quase que 100% dos seus princípios ativos, o que poderia explicar a obtenção de porcentagens de mortalidade relativamente mais altas do que as encontradas por Venzon et al. (2007). Déla et al. (2014) observaram valores altos de mortalidade (mais de 95%) de ninfas de *M. persicae* causada por extratos aquosos e hidroalcoólicos de folhas de nim a 1%, 5% e 10% em comparação à testemunha (sem extrato), causando redução significativa na sobrevivência das ninfas, e que adultos de *M. persicae* intoxicados com esses extratos a 0,1% tiveram sua sobrevivência e fecundidade reduzidas, concluindo que esses extratos são inseticidas eficientes no controle de *M. persicae*. Entretanto, os autores administraram os extratos via dieta artificial, portanto, demonstrando que os extratos aquosos de nim podem também agir como inseticidas via ingestão.

Todavia, variações na eficiência de extratos de nim são dependentes da dose e do tempo de exposição e, muitas vezes, são causados pela mistura de componentes nas formulações de nim (MORDUE & BLACKWELL, 1993), entre elas, os produtos comerciais, que podem conter outros componentes bioativos, tal como o Nim-I-Go[®], um produto vendido no mercado brasileiro à base de óleo de nim mais óleo de karanja (*Pongamia glabra*) e outros óleos vegetais (pimenta malagueta – *Capsicum frutescens*, artemísia – *Artemisia absinthium*, alho – *Allium sativa* e atanatto – *Bixa orellana* (FLOR DO SUL, 2017). Além disso, métodos de extração, condições de armazenamento, parte da planta, origem geográfica e variações anuais nas condições ambientais durante o crescimento do nim podem afetar a sua ação sobre o inseto alvo (ERMEL et al., 2002; SHANNAG et al., 2014).

No presente estudo, os extratos aquosos de folhas de nim e fumos testados exibiram outro efeito além da mortalidade, que foi a redução da capacidade reprodutiva dos adultos tratados, que foram apresentadas pelo menor número de ninfas produzidas. Nisbet et al. (1994) observaram que o potencial reprodutivo de adultos ápteros de *M. persicae* alimentado com dieta contendo azadiractina foi menos da metade da capacidade dos pulgões alimentados com dieta sem azadiractina (controle) nas primeiras 26 horas, enquanto que a produção de ninfas praticamente cessou após 50 horas e todas as ninfas produzidas nasceram mortas e deformadas após esse período.

Contrariamente aos resultados do presente estudo, Venzon et al. (2007) observaram que os tratamentos de extratos aquosos preparado a partir do produto NeemAzal[®] T/S à base de óleo das sementes de nim não influenciaram na reprodução de *M. persicae*. O efeito dos biopesticidas à base de nim sobre o potencial reprodutivo de pulgões vem sendo atribuído à mortalidade dos embriões imediatamente antes desenvolvimento das ninfas ou ao bloqueio das células neurosecretoras pela azadiractina, que interrompe a maturação reprodutiva do adulto e a produção de ninfas (NISBET et al., 1994; VIMALA et al., 2010; SHANNAG et al., 2014).

A ação inseticida do fumo está relacionada principalmente a presença da nicotina, que é o alcaloide mais abundante (quase que 98% do total dos alcaloides presentes) e é neurotóxico, interferido negativamente na transmissão normal dos impulsos nervoso no sistema nervoso central dos insetos, culminando rapidamente na morte dos mesmos (AGUIAR-MENEZES, 2005; RODGMAN & PERFETTI, 2008). Todavia, a presença de outros princípios ativos presentes em menor concentração nas folhas do fumo, muitos dos quais tem propriedades farmacológicas (RODGMAN & PERFETTI, 2008; SIMÕES et al., 2010) podem ser responsáveis pela redução do número de ninfas de *M. persicae*, todavia, pesquisas futuras são necessárias para elucidar essa questão.

O extrato alcoólico concentrado de folhas de nim obtido em rotavapor apresentou maior toxicidade para os adultos ápteros de *M. persicae* do que o de fumo, baseando-se nos valores da CL₅₀ e CL₉₀. Esses resultados podem ser explicados pelos diferentes modos de ação da azadiractina, que incluem inibição alimentar, inibição da síntese do ecdisônio, inibição da biossíntese da quitina, deformações em pupas e em adultos, redução da fecundidade e da longevidade de adultos, alterações na capacidade de atração dos feromônios, esterilização e inibição de oviposição, diminuição da transmissão de vírus e mortalidade (MORDUE & NISBET, 2000; ROEL, 2001 *apud* BIERMANN 2009; SHANNAG et al., 2014). Todavia, a nicotina tem apenas um modo de ação: agonista (análogo) da acetilcolina, assim imita a sua ação, competindo com a acetilcolina pelos seus receptores presentes na membrana pós-sináptica.

5. CONCLUSÕES

Os extratos de folhas de nim (*Azadirachta indica*) e fumos (*Nicotiana tabacum*) procedentes de plantas cultivadas na área do CEPAO/PESAGRO-RIO (Seropédica, RJ), nas oito concentrações testadas (0,25%, 0,5%, 0,75%, 1%, 2,5%, 5%, 10% e 15%) apresentam efeito inseticida sobre *Myzus persicae* em condições de laboratório, acarretando a mortalidade dos adultos e redução número de ninfas, à medida que aumentou a concentração.

O extrato de folhas de nim com tal procedência provocou maior mortalidade do que o de fumo, ambos nas concentrações de 0,5%, 0,75%, 1% e 5%, por causar maior mortalidade dos adultos e redução na capacidade reprodutiva de *Myzus persicae* em condições de laboratório.

O extrato concentrado de folhas de nim elaborado em rotavapor é mais tóxico para *M. persicae* que o de fumo, ambos obtidos de matéria-prima procedente de plantas cultivadas na área do CEPAO/PESAGRO-RIO (Seropédica, RJ).

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABBOTT, W.S. A method of computing the effectiveness of on insecticide. **Journal Economic Entomology**, v.18, n.2, p.265-267, 1925.

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 85p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).

AKOL, A.M.; SITHANANTHAM, S.; NJAGI, P.G.N.; VARELA, A.; MUEKE, J.M. Relative safety of sprays of two nematocides to *Diadegma mollipla* (Holmgren), a parasitoid of the Diamond back moth: effect on adult longevity and foraging behavior. **Crop Protection**, v.21, p.853-859, 2002.

ALMEIDA, D. L. de; GUERRA, J. G. M.; RIBEIRO, R. de L. D. **Sistema integrado de produção agroecológica: uma experiência de pesquisa em agricultura orgânica**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003, 37p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 169).

BLACKMAN, R. L.; EASTOP, V. P. **Aphids on the world's crops: an identification guide**. 2 ed. Chichester: Wiley. 2000. 476p.

BOTTI, J. M. C.; HOLTZ, A. M.; DE PAULO, H. H.; FRANZIN, M. L.; PRATISSOLI, D.; PIRES, A. A. Controle alternativo do *Brevicoryne brassicae* (Hemiptera: Aphididae) com extratos de diferentes espécies de plantas. **Revista Brasileira de Ciências Agrárias**, v. 10, n. 2, p.178-183, 2015.

BRITO, G.G.; COSTA, E.C.; MAZIERO, H.; BRITO, A.B.; DORR, F.A. Preferência da broca-das-cucurbitáceas [*Diaphania nitidalis* Cramer, 1782 (Lepidoptera: Pyralidae)] por cultivares de pepineiro em ambiente protegido. **Ciência Rural**, v. 34, p. 577-579, 2004.

BRUNETON, J. **Pharmacognosy, phytochemistry, medicinal plants**. Andover: Intercept, 1995. 915p.

BIERMANN, A. C. S. **Bioatividade de inseticidas botânicos sobre *Ascia monuste orseis* (Lepidoptera: Pieridae)**. 2009. 72f. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, RS.

CARNEIRO, S. M. DE T. P. G.; PIGNONI, E.; VASCONCELLOS, M. E. DA C.; GOMES, J. C. Eficácia de extratos de nim para o controle do oídio do feijoeiro. **Summa Phytopathology**, v.33, n.1, p.34-39, 2007.

COSTA, R. R.; DOS REIS FIGUEIRA, A.; RABELO FILHO, F. D. A. C.; DE ALMEIDA, J. E. M.; DE CARVALHO FILHO, J. L. S.; OLIVEIRA, C. L. Controle da disseminação de vírus por meio de vetores na cultura da batata. 4823. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 32, n. 4, p. 591-596, 2010.

CIVIDANES, F. J. Exigências térmicas de *Brevicoryne brassicae* e previsão de picos de populacionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n. 5, p. 561-566, 2003.

COSME, L.V.; CARVALHO, G.A.; MOURA, A.P. Efeito de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, v.74, n.3, p.251-258, 2007.

DELÁ, M. A.; KOFFIVI, K. G.; KOMINA, A.; ARNAUD, A.; PHILIPPE, G.; ADOLÉ, G. I. (2014). Evaluation of neem leaves-based preparations as insecticidal agents against the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sternorrhyncha: Aphididae). **African Journal of Agricultural Research**, v. 9, n. 17, p. 1344-1352, 2014.

L

DEVI, P. B.; SINGH, T. K. Studies on the morphometry of the green peach aphid, *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). **Entomological Research**, v. 37, n. 2, p. 81-85, 2007

ERMEL, K.; SCHMUTTERER, H; KLEEBERG, H. Neem products for integrated pest management-commercial products. In: SCHMUTTERER, H (ed.). **The neem tree**. Vithalnagar: Juhu Scheme, Mumbai: Neem Foundation, 2002. p. 470-480.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. (2013). **ExpDes**.pt: Experimental Designs package (Portuguese). R package version 1.1.2.

FLOR DO SUL. Nim-I-Go - óleo de nim emulsionado com karanja, pimenta e alho - fracionado - 100ml. Disponível em: <https://www.flordosul.net/control-de-pragas/defensivos-organicos/nim-i-go-oleo-de-nim-emulsionado-com-karanja-pimenta-e-alho-fracionado-100ml/>. Acesso em 04 jul 2017.

GALLO, D.; NAKANO, O.; NETO, S. S.; CARVALHO, R. P. L.; BATISTA, G. C.; E. BERTI FILHO, E.; PARRA, J. R. P.; ZUCCHI, R. A.; ALVES, S. B.; VENDRAMIM, J. D.; MARCHINI, L. C.; LOPES, J. R. S. OMOTO, C. **Entomologia agrícola**. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.

GAMA, J. (2015). **Ecotoxicology: Methods for Ecotoxicology**. R package version 1.0.1.

GODONOU, I.; JAMES, B.; ATCHA-AHOWÉ, C.; VODOUHÉ, S.; KOOYMAN, C.; AHANCHÉDÉ, A.; KORIE, S. Potential of *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* isolates from Benin to control *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Plutellidae). **Crop Protection**, v.28, n.3, p.220-224, 2009.

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.

HOLTZ, A. M., RONDELLI, V. M., CELESTINO, F. N., BESTETE, L. R., DE CARVALHO, J. R. **Pragas das brássicas**. Colatina, ES: IFES. 2015. 230p.

ISMAN, M.B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Review of Entomology**, v.51, p.45-66, 2006.

LAGUNES, T.A.; RODRÍGUEZ, H. **Los extractos acuosos vegetales con actividad insecticida: el combate de la conchuela del frijol**. Texcoco: USAID-CONACYT-SME-CP, 1992. 57p. (Temas Selectos de Manejo de Insecticidas Agrícolas, 3).

LIU, TONG-XIAN; LIU, SHU-SHENG. Varying effects of two lots of the botanical insecticide Neemix® 4.5 on immature survival and adult oviposition behavior of the diamondback moth, *Plutella xylostella* (Lepidoptera: Plutellidae). **International Journal of Pest Management**, v. 51, n. 1, p. 31-35, 2005.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. de A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas cultivadas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2002.

MACIEL, M. V.; MORAIS, S. M.; BEVILAQUA, C. M.; SILVA, R. A.; BARROS, R. S.; SOUSA, R. N.; SOUZA-NETO, M. A. Atividade inseticida in vitro do óleo de sementes de nim sobre *Lutzomyia longipalpis* (Diptera: Psychodidae). **Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária**, v. 19, n. 1, p. 7-11, 2010.

MAPA. MINISTÉRIO DA AGRICULTURA, PECUÁRIA E ABASTECIMENTO. INSTRUÇÃO NORMATIVA Nº 17, DE 18 DE JUNHO DE 2014. Disponível em: <http://www.agricultura.gov.br/arq_editor/IN-17.pdf> Acesso em: 15 mai. 2016.

MARTINEZ, S.S. (Ed.). **O nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**. Londrina: IAPAR, 2002. 142p.

MORDUE, A. J.; BLACKWELL, A. Azadirachtin: an update. **Journal of Insect Physiology**, v. 39, n. 11, p. 903-924, 1993.

MORDUE, A. J.; NISBET, A. J. Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. **Anais da Sociedade Entomológica do Brasil**, v. 29, n. 4, p. 615-632, 2000.

MOSSINI, S. A. G.; KEMMELMEIER, C. A árvore nim (*Azadirachta indica* A. Juss): múltiplos usos. **Acta Farmacéutica Bonaerense**, v. 24, n. 1, p. 139-48, 2005.

NEVES, B. P.; OLIVEIRA, I. T.; NOGUEIRA, J. C. M. **Cultivo e utilização do nim indiano**. Santo Antônio de Goiás: EMBRAPA/CNPAP, 2003. 12p. (Circular Técnica, 62).

MOREIRA, M. D.; PICANÇO, M. C.; SILVA, M. E.; MORENO, S. C.; MARTINS, J. C.; VENZON, M. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. **Controle alternativo de pragas e doenças**. Viçosa: EPAMIG/CTZM, p. 89-120, 2006.

NEVES, M. C. P.; GUERRA, J. G. M.; CARVALHO, S. R.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Sistema integrado de produção agroecológica ou Fazendinha Agroecológica km 47. In: AQUINO, A. M., ASSIS, R. L. (Ed.). **Agroecologia:**

princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p.147-172.

RANDO, J. S. S.; LIMA, C. B.; BATISTA, N. A.; FELDHAUS, D. C.; LOURENÇO, C. C.; POLONIO, V. D.; ÁVILA, R. R.; MALANOTTE, M. L. Extratos vegetais no controle dos afídeos *Brevicoryne brassicae* (L.) e *Myzus persicae* (Sulzer). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 2, p. 503-512, 2011.

RIBEIRO, L. P.; DEQUECH, S.T.B.; RIGO, D.S.; FERREIRA, F.; SAUSEN, C.D.; STURZA, V.S.; CAMERA, C. Toxicidade de inseticidas botânicos sobre *Eriopsis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). **Revista da FZVA**, v. 16, n. 2, p. 246-254. 2009.

RODGMAN, A.; PERFETTI, T. A. **The chemical components of tobacco and tobacco smoke.** Boca Raton: Taylor & Francis, 2008. 2332p.

SHANNAG, H. S., CAPINERA, J. L., & FREIHAT, N. M.. Efficacy of different neem-based biopesticides against green peach aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae). **International Journal of Agricultural Policy and Research**, v. 2, n. 2, p. 061-068, 2014.

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

SILVA, M. Z; OLIVEIRA, C. A. L.; SATO, M. E. Seletividade de produtos fitossanitários sobre o ácaro predador *Agistemus brasiliensis* Mاتیoli, Ueckermann & Oliveira (Acari: Stigmaeidae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.31, n.2, p.388-396, 2009.

SIMÕES, C. M. O. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** 5. ed. v.1 Porto Alegre/Florianópolis: Editora da UFSC/Editora da UFRGS, 2003, p. 903-918.

VENZON M.; ROSADO M. C.; PALLINI A.; FIALHO A.; PEREIRA C. J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopsis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 42, n. 5, p. 627-631, 2007.

VIMALA, B., MURUGAN, K., DEECARAMAN, M., KARPAGAM, S., VIJAYALAKSHMI, M., SUJATHA, K. The toxic effect of neem extract, spinosad and endosulfan on the growth of aphids and its predator. **Bioscan**, v. 5, n. 3, p. 383-386, 2010.

CAPÍTULO II - EFEITOS DIRETO E INDIRETO DE EXTRATOS DE FUMO E NIM SOBRE *Coleomegilla maculata* DeGeer (COLEOPTERA: COCCINELLIDAE) ALIMENTADAS COM *Myzus persicae* (Sulzer) (HEMIPTERA: APHIDIDAE) TRATADOS COM OS EXTRATOS EM LABORATÓRIO.

RESUMO

No desenvolvimento de uma agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada, apoiada em práticas que promovam a agrobiodiversidade e a inserção dos processos biológicos naturais, é importante a seleção de produtos fitossanitários seletivos às populações de inimigos naturais. Sendo assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar os efeitos letais e/ou subletais (efeitos em parâmetros biológicos) sobre ovos, larvas e adultos de *Coleomegilla maculata* De Geer, quando alimentados com *Myzus persicae* (Sulzer), tratados com extratos alcoólicos de fumo e nim, nas concentrações letais (CL₅₀ e CL₉₀). Os experimentos foram conduzidos em laboratório, em condições climatizadas (25 ± 1°C, UR 60 ± 10% e fotofase de 12h). Foi estabelecida uma criação matriz, onde as larvas e os adultos de *C. maculata* foram alimentados *ad libitum* com *M. persicae* por duas gerações, antes de iniciar os bioensaios. As pulverizações foram efetuadas com pulverizador manual calibrado, com a aplicação de 1,5 ± 0,5 mg de calda cm², de acordo com a metodologia estabelecida pela IOBC. I) Foram avaliados os efeitos dos extratos sobre 90 ovos/tratamento de *C. maculata*, agrupados em 15 ovos/placa de Petri, com seis repetições/tratamento. Avaliou-se a viabilidade dos ovos (%), período embrionário(dias), destas individualizou-se 20 larvas do primeiro instar/tratamento, considerando cada larva uma repetição. Estas foram observadas e alimentadas *ad libitum* com *M. persicae* não tratados até a fase adulta para avaliar os possíveis efeitos subletais. II) Foram avaliados os efeitos dos extratos em larvas de 3º instar de *C. maculata*, sendo 20 larvas/tratamento, individualizadas em placas de Petri (5,0 x 1,2 cm). Estas foram alimentadas *ad libitum*, uma única vez durante 24h, com *M. persicae* pulverizados com os tratamentos. No dia seguinte, as larvas foram observadas e alimentadas *ad libitum* a cada 24 h com pulgões não tratados até a emergência dos adultos. As seguintes variáveis foram determinadas: duração (em dias) do 3º e 4º instar, pré-pupa e pupa, porcentagem de sobrevivência dessas fases de desenvolvimento; a porcentagem de emergência e peso dos adultos (g). III) Foram avaliados os efeitos dos extratos por ação de ingestão em adultos de *C. maculata*, sendo separados em 10 adultos (5 casais) por tratamento. Estes foram alimentados *ad libitum*, uma única vez dentro de 24h, com pulgões *M. persicae* pulverizados com os tratamentos correspondentes, sendo cada casal uma repetição. Foi avaliada a porcentagem de sobrevivência durante 30 dias, e o número de posturas e ovos, a média de ovos/postura, e a viabilidade (%) em cada tratamento. Os dados de cada variável foram analisados, realizando a análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade. Os extratos alcoólicos de fumo e nim reduzem a viabilidade dos ovos e a sobrevivências das larvas provenientes destes ovos, reduzindo assim a emergência dos adultos. Estes extratos quando aplicados sobre *M. persicae* e fornecidos a larvas de terceiro instar afetaram o tempo de desenvolvimento e a porcentagem de sobrevivência, reduzindo número de adultos emergidos. Não houve mortalidade das joaninhas adultas quando alimentados com pulgão tratados com extratos de fumo e nim, sendo apenas influenciada a porcentagem de eclosão provenientes das posturas após a alimentação.

Palavras-chave: Joaninha afidófaga, *Nicotiana tabacum*, *Azadirachta indica*, extratos botânicos, pulgão verde, efeitos em organismos não-alvo.

ABSTRACT

In developing sustainable agriculture, productive and environmentally balanced agriculture, based on practices that promote agrobiodiversity and the insertion of natural biological processes; it is important to select phytosanitary products selective to populations of natural enemies. Therefore, the objective of this work was to evaluate the lethal and / or sublethal effects (effects on biological parameters) on *Coleomegilla maculata* De Geer eggs, larvae and adults when fed with *Myzus persicae* (Sulzer), treated with alcoholic extracts of smoke and neem concentrations at lethal concentrations (CL50 and CL90). The experiments were conducted in the laboratory under climatic conditions (25 ± 1 ° C, RH $60 \pm 10\%$ and 12h photophase). A matrix creation was established where the larvae and adults of *C. maculata* were fed ad libitum with *M. persicae* for two generations, before starting the bioassays. The spraying was carried out with calibrated manual sprayer, with the application of 1.5 ± 0.5 mg of cm^2 cm, according to the methodology established by IOBC.I) The effects of the extracts on 90 eggs / treatment of *C. maculata*, grouped in 15 eggs / Petri dish, with six replications / treatment, were evaluated. It was evaluated the viability of the eggs (%), embryonic period (day), of which 20 larvae of the first instar / treatment were individualized, considering each larva one repetition. These were observed and fed ad libitum with untreated *M. persicae* until adulthood to assess possible sublethal effects. II) The effects of extracts were evaluated in larvae of 3rd instar of *C. maculata*, 20 larvae / treatment, individualized in Petri dishes (5 x 1,2 cm). These were fed ad libitum, once only within 24h, with *M. persicae* sprayed with the treatments. The next day, the larvae were observed and fed ad libitum every 24 h with untreated aphids until adult emergence. The following variables were determined: duration (in days) of the 3rd and 4th instar, pre-pupae and pupa, percentage of survival of these stages of development; the percentage of emergence and weight of adults. III) The effects of extracts per action of ingestion in adults of *C. maculata* were evaluated, being separated into 10 adults (5 couples) per treatment. These were fed ad libitum, once only within 24h, with *M. persicae* aphids and sprayed with the corresponding treatments, each pair being a repeat. The percentage of survival for 30 days, the number of postures and eggs, the mean number of eggs / posture, and the viability of each treatment were evaluated. The data of each variable were analyzed, performing the analysis of variance and the means compared by the Tukey test at 5% of probability. Smoke and neem extracts reduce egg viability and survival of larvae from these eggs, thus reducing the emergence of adults. These extracts when applied on *M. persicae* and supplied to third instar larvae affected the development time and percentage of survival, reducing the number of emerged adults. There was no mortality of adult ladybugs when fed with aphids treated with extracts of tabbaco and neem, and only the percentage of hatching from the postures after feeding was influenced.

Key words: Aphidophagous lady beetle, *Nicotine tabacum*, *Azadiracthina indica*, botanical extracts, peach green aphid, effects on non-target organisms.

1. INTRODUÇÃO

Alguns problemas ambientais relacionados à agricultura, especialmente pelo uso indiscriminado e irracional de agrotóxicos químicos dos grupos orgânicos sintéticos, como os organoclorados, organofosforados, carbamatos e piretróides, têm sido denunciados desde os anos 60, iniciado por Rachel Carson em seu livro “Primavera Silenciosa” publicado em 1964, onde aborda os impactos secundários ocasionados por substâncias tóxicas, principalmente, inseticida orgânico sintético (ALTIERE, 2003).

O método de controle químico é o mais utilizado no controle de pragas em varias culturas agrícolas. Porém, com o aumento dos problemas relacionados ao uso exclusivo e constante de defensivos químicos, e com a crescente exigência por alimentos livres de agrotóxicos, e a busca pela sustentabilidade do meio ambiente, é necessária a utilização de métodos de controle alternativos ao controle químico para o manejo de pragas (ISMAN 2006; OLIVEIRA, 2013).

O pulgão é um inseto praga que está relacionado a varias culturas agrícola, entre eles se destaca a espécie *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae). Além de danos diretos, provocados pela sucção contínua da seiva das plantas quando se alimenta, este vive em colônias e produz uma substância açucarada que atrai as formigas, ao qual protege o pulgão. Esta substância e chamada de *honeydew*, que propicia o desenvolvimento da fumagina sobre as folhas da planta afetando seu desempenho. Além disso, essa espécie de pulgão provoca danos indiretos, pois está relacionada como vetor de várias viroses nas plantas (BLACKMAN & EASTOP, 2000; HOLTZ et al., 2015).

As pesquisas têm avançado na busca de desenvolvimento de soluções tecnológicas para uma agricultura sustentável, produtiva e ambientalmente equilibrada, apoiada em práticas agropecuárias que promovam a agrobiodiversidade e os processos biológicos naturais, para um melhor aproveitamento dos recursos locais e redução do uso de insumos externos, como busca a agricultura orgânica com bases agroecológicas (AGUIAR-MENEZES 2003, 2006).

A seleção de produtos fitossanitários que minimizem os impactos negativos às populações de inimigos naturais é um ponto de partida para o uso do manejo integrado de pragas em cultivos convencionais e orgânicos. Existe a crença de que os inseticidas naturais, permitidos em agricultura orgânica, oferecem menos riscos para o ambiente

que os inseticidas sintéticos. Entretanto, alguns estudos têm mostrado que a seletividade de defensivos alternativos, em relação aos inimigos naturais, tem sido menor ou muito próxima a de novos inseticidas sintéticos, sob condições de laboratório (BAHLAI et al., 2010). Um exemplo é o nim (*Azadirachta indica*), que vêm sendo amplamente utilizado em sistemas orgânicos, contudo, alguns trabalhos têm demonstrado seu impacto negativo em diversas espécies de inimigos naturais (VENZON et al., 2007; COSME et al., 2007; ZANUNCIO et al., 2016).

Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar os possíveis efeitos letais (tóxico) e/ou subletais (efeitos em parâmetros biológicos) dos extratos alcoólicos de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*), nas concentrações CL₅₀ e CL₉₀, sobre ovos de *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae), e sobre suas larvas e seus adultos quando alimentados com *Myzus persicae* tratados com esses extratos botânicos.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram conduzidos em laboratório, em condições climatizada no Centro Integrado de Manejo de Pragas (CIMP), localizado no Departamento de Entomologia e Fitopatologia (DEnF), pertencente ao Instituto de Ciências Biológica e da Saúde (ICBS), da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro (UFRRJ), localizada no município de Seropédica, RJ.

2.1. Procedência dos Insetos

2.1.1. Criação de *Coleomegilla maculata* em Laboratório

Os ovos, larvas e adultos de *C. maculata* usados para os estudos de seletividade foram obtidos de uma colônia estoque, formada a partir de ovos retirados da colônia matriz. A colônia matriz de *C. maculata* originou-se a partir de adultos coletados no campo em área de produção de hortaliças orgânicas da Fazendinha Agroecológica km 47 (Seropédica, RJ, Brasil). Essa colônia foi mantida em laboratório do CIMP, em condições climáticas controladas ($25\pm 1^\circ\text{C}$, $60\pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas), alimentadas *ad libitum* com larvas vivas de *Drosophila melanogaster* Meigen (Diptera: Drosophilidae) e ovos inviabilizados de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae) (SACRAMENTO, 2016).

Nas colônias estoque, as larvas e os adultos de *C. maculata* foram alimentados *ad libitum* com pulgão verde, *M. persicae* por duas gerações para evitar o condicionamento pré-imaginal, seguindo metodologia citada por MICHAUD & JYOTI (2008) e assim iniciar os bioensaios. Nessas colônias, os adultos foram mantidos em potes plásticos transparentes descartáveis de 1L, vedados com tampa telada de organza para permitir as trocas gasosas. Pela dificuldade de determinação dos sexos visualmente (GORDON, 1978), foram acondicionados seis adultos de *C. maculata* por pote, garantindo a presença de pelo menos um casal por pote. A água foi fornecida em algodão hidrófilo umedecido com água filtrada, acondicionado em tampas plásticas de garrafa PET. As larvas de *C. maculata* a partir de o segundo instar foram individualizadas em frascos de vidro de 20 mL, tampados com rolha de algodão hidrófilo, até se tornarem adultos.

2.1.2. Criação de *Myzus persicae* em Laboratório

Pulgões *M. persicae* foram coletados sobre hortaliças infestadas na área de cultivo orgânico no Módulo de Produção Intensiva de Hortaliças do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA) e no Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO), da Empresa de Pesquisa Agropecuária do Estado do Rio de Janeiro-PESAGRO-RIO, ambos localizados no município de Seropédica, RJ.

Para garantir alimento aos pulgões, um plantio de couve (*Brassica oleracea* var. *acephala*) foi estabelecido em canteiros na área experimental do DEnF/UFRRJ, onde não foi realizado qualquer tratamento fitossanitário. Destas plantas foram retiradas folhas para servir de alimento aos pulgões, tanto na manutenção da criação como na condução dos bioensaios.

A criação de *M. persicae* foi feita em discos foliares de couve (15 cm diâmetro), sobre papel filtro umedecido com água destilada em placas de Petri (20 x 1,5cm), fechadas com plástico de PVC, mantidas em câmaras climatizadas a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, umidade relativa $60 \pm 10\%$ e fotofase de 12h no CIMP. A cada três dias as placas foram trocadas, assim como os discos de papel filtro e de couve, sendo transferidos os pulgões para novos discos foliares, com uso de pincel de cerdas finas e macias.

2.2. Obtenção dos Extratos Botânicos

Os extratos de *Azadirachta indica* A. Juss (nim, Meliaceae) e de *Nicotiana tabacum* L. (fumo, Solanaceae) foram feitos a partir das folhas dessas espécies de plantas cultivadas na área experimental do CEPAO/PESAGRO-RIO. No laboratório de Extratos de Plantas do CEPAO, as folhas foram lavadas e submetidas à secagem em estufa ventilada a 40°C até peso constante. As folhas secas foram trituradas em moinho de facas até a obtenção de um pó fino e homogêneo, que foi usado para a extração alcoólica dos princípios bioativos dessas plantas. A extração consistiu em adicionar 150g do pó seco em 1 litro do solvente (álcool etílico hidratado a 92°INPM), deixando essa mistura em repouso por 24 horas sob a temperatura ambiente e na ausência de luz. Após este período, a mistura foi coada em tecido tipo *voile* e 500 ml da solução obtida foi adicionada em balão de vidro, o qual foi encaixado no rotavapor (Fisatam[®]) e imergido até cobrir a linha da solução em água a 60°C dentro da cuba em banho maria (Fisatam[®]). Em seguida o rotavapor foi ligado e deixado na rotação de 20 rpm. Ao

iniciar a evaporação do álcool, a bomba de vácuo (Primatec[®]) foi ligada a 550 mm Hg, para a concentração e evaporação de 75% do álcool da solução do extrato vegetal. Após este processo, os extratos alcoólicos concentrados obtidos foram acondicionados em frascos de vidro de 100 ml de cor âmbar, os quais foram embalados com papel alumínio e armazenados a -20°C (em freezer), para posterior utilização nos bioensaios.

2.3. Bioensaios

Os bioensaios foram conduzidos no laboratório em ambiente climatizado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, e $60 \pm 10\% \text{UR}$, com fotofase de 12 horas) no CIMP/UFRRJ. Os tratamentos consistiram de extratos alcoólicos de fumo e nim, cada um nas concentrações letais CL_{50} (1,73 e 0,77 ml de extrato alcóólico concentrado/100 ml de água destilada, respectivamente) e CL_{90} (10,50 e 3,69 ml de extrato alcóólico concentrado de nim /100 ml de água destilada, respectivamente) para *M. persicae* e a água destilada (testemunha) determinadas a partir de testes anteriores. O espalhante adesivo Tween[®] 80 (0,05%) foi adicionado em todos os tratamentos.

2.3.1. Avaliação dos Extratos Botânicos sobre Ovos de *C. maculata*

Noventa ovos provenientes da colônia estoque de *C. maculata*, advindos de fêmeas alimentadas com pulgões *M. persicae*, com até 24 horas de idade, agrupados em 15 ovos/placa de Petri (5 x 1,2cm), sobre discos de papel filtro umedecido com água destilada, para cada tratamento. Cada placa correspondeu a uma repetição, com total de seis repetições/tratamento. As pulverizações foram efetuadas com um pulverizador manual de 500 mL previamente calibrado, garantindo a aplicação de $1,5 \pm 0,5$ mg de calda cm^2 , de acordo com a metodologia estabelecida pelo IOBC. Em seguida as placas foram identificadas com os respectivos tratamentos e vedadas com filme plástico de PVC transparente. Os ovos tratados foram observados diariamente com auxílio de um microscópio estereoscópico para avaliar possíveis efeitos letais (ação inseticida de contato) e subletais (interferência no período embrionário). As seguintes variáveis foram determinadas: viabilidade dos ovos (porcentagem de larvas que eclodiram dos ovos tratados) e período embrionário (intervalo, em dias, entre a postura até a eclosão das larvas).

Após a eclosão das larvas, em cada tratamento foi individualizado 20 larvas de primeiro instar, em tubos de vidro de 20 mL transparente (após 2º dia da eclosão) e tampado com rolhas de algodão hidrófilo, sendo considerada cada larva uma repetição. As larvas foram observadas e alimentadas *ad libitum* com *M. persicae* não tratados até a fase adulta para avaliar possíveis efeitos subletais. As seguintes variáveis foram determinadas: duração do período larval (intervalo, em dias, da eclosão das larvas até a fase de pupa); porcentagem de sobrevivência nas fases larval e pupal até a emergência dos adultos; peso (g), comprimento e largura dos adultos (mm).

Os dados de cada variável avaliada foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade, sendo em seguida submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar[®]. (FERREIRA, 2011). Considerou-se atendidos os pressupostos de normalidade e homogeneidade quando pelo menos um teste de normalidade e pelo menos um teste de homogeneidade foi menor ou igual a 5%.

2.3.2. Avaliação dos Efeitos dos Extratos Botânicos por Ação de Ingestão em Larvas de 3º instar de *C. maculata*

Vinte larvas de terceiro instar provenientes da colônia estoque de *C. maculata* foram individualizadas/tratamento em placas de Petri (5 x 1,2 cm), contendo disco foliar de couve (4cm de diâmetro) e papel filtro umedecido com água destilada. As larvas foram alimentadas *ad libitum*, uma única vez durante um período de 24h, com pulgões *M. persicae* pulverizados com os tratamentos correspondentes. As pulverizações foram efetuadas com um pulverizador manual de 500 mL previamente calibrado, garantindo a aplicação de $1,5 \pm 0,5$ mg de calda cm², de acordo com a metodologia estabelecida pelo IOBC. No dia seguinte, as larvas foram observadas diariamente e alimentadas *ad libitum* a cada 24 horas com *M. persicae* não tratados até a emergência dos adultos. Cada larva foi considerada uma repetição. As seguintes variáveis foram determinadas: duração (em dias) do terceiro e quarto instar, da pré-pupa e da pupa, porcentagem de sobrevivência dessas fases de desenvolvimento; a porcentagem de emergência e peso dos adultos. Insetos deformados foram fotografados em microscópio estereoscópico com máquina fotográfica acoplada (Carl Zeiss[®], modelo Discovery V12).

Os dados de cada variável avaliada foram submetidos a testes de normalidade e homogeneidade e sendo esses atendidos foram submetidos à análise de variância e as

médias comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2011). Considerou-se atendidos os pressupostos de normalidade e homogeneidade quando pelo menos um teste de normalidade e pelo menos um teste de homogeneidade foi menor ou igual a 5%.

2.3.3. Avaliação dos Efeitos dos Extratos Botânicos por Ação de Ingestão em Adultos de *C. maculata*

Adultos da colônia estoque foram observados durante um período de sete dias até a formação de casais. Os casais formados foram mantidos separadamente, em copos plásticos transparentes de 250 mL com tampa perfurada, sendo separados 10 adultos (cinco casais) por tratamento (um casal por copo). Os casais foram alimentados *ad libitum*, uma única vez dentro de 24 horas, com pulgões *M. persicae* pulverizados com os tratamentos correspondentes, sendo considerado cada casal uma repetição.

Foi avaliada a porcentagem de sobrevivência dos adultos por um período de 30 dias, e o número total de posturas e ovos colocados em cada tratamento, o número médio de ovos/postura, e a viabilidade destes ovos por meio da porcentagem de eclosão das larvas. Insetos adultos normais foram fotografados em microscópio estereoscópico com máquina fotográfica acoplada (Carl Zeiss®, modelo Discovery V12).

Os dados de cada variável avaliada foram submetidos aos testes de normalidade e homogeneidade, sendo atendidos esses testes, em seguida foi realizada a análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, com auxílio do programa estatístico Sisvar® (FERREIRA, 2011). Considerou-se atendidos os pressupostos de normalidade e homogeneidade quando pelo menos um teste de normalidade e pelo menos um teste de homogeneidade foi menor ou igual a 5%.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Efeitos dos Extratos Botânicos sobre Ovos de *C. maculata*

Os ovos de *C. maculata* tratados com extrato alcoólico de fumo e nim nas concentrações letais 1,73 e 0,77 ml (CL₅₀) e 10,50 e 3,69 ml (CL₉₀) apresentaram redução da viabilidade quando comparados ao tratamento testemunha, tendo o extrato de nim ocasionado a menor viabilidade dos ovos. No entanto, ambos os extratos não interferiram no período embrionário (Tabela 1).

Tabela 1. Viabilidade dos ovos (%) e o período embrionário (dias) de *Coleomegilla maculata*, tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* (25± 2°C, 60±10% UR, fotofase de 12h).

Tratamento ¹	Viabilidade dos ovos (%) ²	Periodo embrionário (dias) ²
Testemunha	75,5± 2,57 a	2,83 ± 0,41 a
Fumo CL ₅₀	58,89 ± 4,77 bc	3,00 ± 0,00 a
Fumo CL ₉₀	62,22 ± 3,44 b	3,17 ± 0,41 a
Nim CL ₅₀	54,44± 4,48 c	3,17 ± 0,41 a
Nim CL ₉₀	53,35 ± 5,62 c	3,17± 0,41 a

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

O efeito causado por produtos contendo azadirachtina sobre a redução da viabilidade dos ovos de joaninhas também foi observado por Cosme et al. (2007) quando utilizaram concentrações de 1%, 5% e 10% do produto comercial Nim-I-Go[®] sobre ovos de *Cycloneda sanguinea*, (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae), e por Lixa (2013) com os produtos Natuneem[®] a 2%, Nim-I-Go[®] a 2% sobre ovos de *C. maculata*. Esta redução da viabilidade pode estar relacionada à azadirachtina presente no nim, e a nicotina presente no fumo, ambas com propriedades inseticidas, que podem estar interferindo no desenvolvimento embrionário.

De acordo com as considerações de Cosme et al. (2007), a azadirachtina afeta a ação das mitocôndrias, e como estas mitocôndrias são responsáveis pela produção de energia necessária ao desenvolvimento dos embriões, estes produtos podem ter

impedido seu funcionamento, ocasionando assim a redução da viabilidade, o que foi também descrito por Vogt et al. (1998), que afirmou que a azadirachtina deixa sem função a mitocôndria. Todavia, como a nicotina tem efeito neurotóxico, provavelmente provocou uma hiperexcitação do sistema nervoso de modo descontrolado, causando a paralisia do indivíduo (AGUIAR-MENEZES, 2005).

O período embrionário de ovos de *C. maculata* registrado neste estudo, conforme a Tabela 1 está de acordo com o tempo citado na literatura. Simpson & Burkhardt (1960) verificaram, aos 26°C, média do período embrionário para ovos de *C. maculata* de 2,8 dias, quando *Theriophis maculata* (Buckton) (pulgão-manchado-da-alfafa) foi usado como alimento. Obrycki & Tauber (1978) observaram média de 3,2 dias quando adultos de *C. maculata* foram alimentados com o pulgão *Acyrtosiphon pisum* (Harris) a 24°C de temperatura. Cosme et al. (2007) avaliando o efeito do Nim-I-Go[®], nas concentrações de 1%, 5% e 10%, sobre o período embrionário dos ovos de *C. sanguinea*, verificaram que nenhuma das doses afetou a duração da fase embrionário, variando este de 2,8 a 2,9 dias.

Lixa (2008) observou 2,7 e 3,1 dias para o período embrionário de *C. maculata* quando os adultos foram alimentados com pulgão *Lipaphis erysimi* (kalt., 1843) (Hemiptera: Aphididae) e ovos de *Ephestia kuehniella* (Zeller, 1879) (Lepidoptera: Pyralidae). Esta autora relata período embrionário variando de 2 a 4 dias para *C. maculata*, quando avaliou o efeito dos produtos Agrobio, Calda Sulfocálcica, Natuneem[®], Nim-I-Go[®] e Rotenat[®] sobre ovos quando os adultos foram alimentados com ovos de *E. kuehniella* e larvas de *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae). Sendo assim, o período embrionário observado no presente estudo se encontra na faixa esperada em relação ao tempo para o desenvolvimento embrionário de *C. maculata*.

Com relação a duração do desenvolvimento em cada instar das larvas, provenientes de ovos de *C. maculata* tratados com extrato alcoólico de nim e fumo e com o controle (água), não houve diferença significativa entres os tratamentos. Contudo, a sobrevivência no primeiro e segundo instar sob CL₅₀ de fumo foi menor que no tratamento controle em relação demais tratamentos (Tabela 2).

Avaliando a sobrevivência no terceiro instar do experimento com CL₅₀ e CL₉₀ de fumo e CL₅₀ de nim, foram os que apresentaram menor porcentagem de sobrevivência, não diferindo entre si, porém diferindo do tratamento CL₉₀ de nim e do controle. No quarto instar de desenvolvimento observou que a sobrevivência na CL₅₀ de fumo e CL₅₀

e CL₉₀ de nim não houve diferença entres ambos, mas houve diferença do tratamento da CL₉₀ de fumo e dos mesmos em relação ao tratamento controle (Tabela 2).

Tabela 2. Duração (dias) e sobrevivência (%) dos instares larvais, pré-pupa e da pupa provenientes de ovos de *Coleomegilla maculata*, tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* (25± 2°C; 60 ±10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Primeiro instar ²		Segundo instar ²	
	Duração	Sobrevivência	Duração	Sobrevivência
Testemunha	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a	3,35 ± 0,49 a	100,0 ± 0,00 a
Fumo CL ₅₀	3,00 ± 0,00 a	95,00 ± 2,24 b	3,11 ± 0,32 a	95,00 ± 2,24 b
Fumo CL ₉₀	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a	3,15 ± 0,59 a	100,0 ± 0,00 a
Nim CL ₅₀	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Nim CL ₉₀	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a	3,00 ± 0,00 a	100,0 ± 0,00 a
Tratamento ¹	Terceiro instar ²		Quarto instar ²	
	Duração	Sobrevivência	Duração	Sobrevivência
Testemunha	3,20 ± 0,41 a	100,0 ± 0,00 a	4,35±0,49 a	100,0 ± 0,00 a
Fumo CL ₅₀	3,47 ± 0,61 a	95,00 ± 2,24 b	4,68±0,67 a	95,00 ± 2,24 b
Fumo CL ₉₀	3,15 ± 0,59 a	95,00 ± 2,24 b	5,53±0,61 a	80,00 ± 4,10 c
Nim CL ₅₀	2,95 ± 0,51 a	95,00 ± 2,24 b	4,95 ± 0,52 a	95,00 ± 2,24 b
Nim CL ₉₀	3,70 ± 0,55 a	100,0 ± 0,00 a	4,83± 0,73 a	90,00 ± 3,07 b
Tratamento ¹	Pré-pupa ²		Pupa ²	
	Duração	Sobrevivência	Duração	Sobrevivência
Testemunha	1,00 ± 0,23 a	100,0 ± 0,00 a	3,69 ± 0,48 a	100,0 ± 0,00 a
Fumo CL ₅₀	1,16 ± 0,37 a	95,00 ± 2,24 b	4,00 ± 0,47 a	95,00 ± 2,24 b
Fumo CL ₉₀	1,07 ± 0,26 a	60,00 ± 5,02 c	3,75 ± 0,45 a	60,00 ± 5,02 d
Nim CL ₅₀	1,00 ± 0,26 a	95,00 ± 2,24 b	3,86 ± 0,36 a	75,00 ± 4,43 c
Nim CL ₉₀	1,17 ± 0,38 a	90,00 ± 3,07 b	3,80 ± 0,77 a	70,00 ± 3,07 c

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguida de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade

Esta redução percentual de sobrevivência ao longo das fases de desenvolvimento provavelmente estará relacionada ao hábito das larvas de coccinelídeos de permanecer no córion dos ovos, após a eclosão, por um periodo de até 24 horas, ao qual pode favorecer sua contaminação (HODEK, 1973). Desta forma, os produtos citados teriam possibilidades de ocasionar implicações negativas no momento da troca de tegumento. Conforme relato de Isman (2006), a azadirachtina tem dois efeitos um hormonal que

pode levar a ecdises incompletas, em insetos imaturos, como também esterilidade em fêmeas adultas, e o outro é antialimentar sobre os insetos, que pode levar o inseto a morte por inanição.

A nicotina tem ação neurotóxica, e possui efeito de ativação dos receptores de acetilcolina de modo anormal, provocando hiperexcitabilidade do sistema nervoso levando a transmissão contínua dos impulsos nervosos, provocando tremores e paralisia do indivíduo (AGUIAR-MENEZES 2005). Contudo, a pouca literatura disponível que possa embasar os resultados encontrados na presente pesquisa, demonstrando assim a necessidade de mais estudos em relação a seletividade e os efeitos dos produtos alternativos aos e insetos benéficos.

Ao analisar as fases de pré-pupa e de pupa, não houve diferença significativa entre os tratamentos avaliados em relação à duração do desenvolvimento em ambas as fases. Contudo, a porcentagem de sobrevivência das duas fases diferiu do teste controle, quando os ovos de *C. maculata* foram tratados com extrato de fumo e nim (CL₅₀ e CL₉₀) (Tabela 2).

Pesquisa realizada com larvas de primeiro e quarto instar de *Coccinella septempunctata* (L, 1758) (Coleoptera: Coccinellidae), por Banken & Stark (1998) atribuí o efeito da azadirachtina no ciclo hormonal do inseto após sua absorção. Segundo os autores ela interfere no equilíbrio de dois hormônios produzidos durante a fase larval, o ecdisônio e o hormônio juvenil, e estas alterações provocam a mortalidade ainda na fase jovem.

Em relação à duração do período larval, e ao ciclo biológico não houve diferença entre os tratamentos com a CL₅₀ e CL₉₀ de nim e fumo, comparados ao tratamento controle (Tabela 3). Comparando os resultados com estudos realizados, confirmam que a duração média avaliada nos tratamentos para o período larval e o ciclo biológico está de acordo com a literatura (D'ÁVILA, 2012; LIXA, 2013).

A emergência dos adultos foi reduzida nos tratamentos com fumo (CL₉₀) e nim (CL₅₀ e CL₉₀) sobre ovos de *C. maculata*, fato este que está relacionado à menor porcentagem de indivíduos sobreviventes na mudança de fase ao longo do desenvolvimento juvenil.

Tabela 3. Duração do período larval (dias), ciclo biológico (dias) e sobrevivência dos adultos (%), provenientes de ovos de *Coleomegilla maculata* tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* (25 ± 2°C; 60 ± 10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Período larval ²	Ciclo biológico ²	Sobrevivência dos adultos (%) ²
	Duração (dias)	Duração (dias)	
Testemunha	13,90 ± 0,79 a	18,40 ± 1,57 a	95,00 ± 2,24 a
Fumo CL ₅₀	13,55 ± 1,15 a	18,45 ± 1,26 a	95,00 ± 2,24 a
Fumo CL ₉₀	14,55 ± 1,54 a	17,60 ± 2,82 a	60,00 ± 5,02 c
Nim CL ₅₀	13,65 ± 1,27 a	17,30 ± 2,72 a	75,00 ± 4,43 b
Nim CL ₉₀	13,55 ± 2,14 a	17,55 ± 2,98 a	70,00 ± 3,07 b

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade

Não houve diferença no peso, comprimento e largura das joaninhas adultas da espécie *C. maculata*, provenientes nos diferentes tratamentos de fumo (CL₅₀ e CL₉₀) e nim (CL₅₀ e CL₉₀) pulverizadas sobre os ovos em relação ao tratamento controle (Tabela 4).

Tabela 4. Peso (g), comprimento (mm) e largura (mm) de adultos de *Coleomegilla maculata* provenientes de ovos tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* (25± 2°C; 60±10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Peso (g) ²	Comprimento (mm) ²	Largura (mm) ²
Testemunha	0,0825 ± 0,0013 a	5,45 ± 0,53 a	2,92 ± 0,20 a
Fumo CL ₅₀	0,0707 ± 0,0011 a	5,57 ± 0,41 a	2,83 ± 0,19 a
Fumo CL ₉₀	0,0693 ± 0,0009 a	5,40 ± 0,58 a	2,81 ± 0,19 a
Nim CL ₅₀	0,0747 ± 0,0013 a	5,59 ± 0,40 a	2,79 ± 0,19 a
Nim CL ₉₀	0,0740 ± 0,0012 a	5,61 ± 0,29 a	2,91 ± 0,27 a

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade

3.2. Efeitos dos Extratos Botânicos no 3º Instar de *C. maculata* via Ingestão de Pulgões Tratados

Os tratamentos com extrato alcoólico quando aplicados sobre pulgões e fornecidos a larvas de 3º instar, provocaram alteração na duração do instar larval, sendo que a CL₅₀ de fumo e nim apresentaram maior duração, com média de 6,5 dias, e nas CL₉₀ ambas não apresentaram diferença entre si, porém, todas as concentrações letais analisadas foram significativamente diferentes do tratamento controle (Tabela 5), mas não afetou a sobrevivência nos diferentes tratamentos.

Tabela 5. Duração (dias) e sobrevivência (%) de larvas de 3º e 4º instar, pré-pupa, e pupa provenientes de larvas de 3º instar de *Coleomegilla maculata* alimentadas com *Myzus persicae* tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para esse pulgão. (25 ± 2°C; 60 ± 10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Terceiro instar ²		Quarto instar ²	
	Duração	Sobrevivência	Duração	Sobrevivência
Testemunha	3,40 ± 0,50 a	100,00 ± 0,00 a	3,05 ± 0,22 a	100,00 ± 0,00 a
Fumo CL ₅₀	6,50 ± 0,83 c	100,00 ± 0,00 a	3,63 ± 0,72 ab	80,00 ± 4,10 b
Fumo CL ₉₀	4,95 ± 0,57 b	100,00 ± 0,00 a	4,66 ± 0,77 ab	60,00 ± 5,02 d
Nim CL ₅₀	6,55 ± 0,76 c	100,00 ± 0,00 a	3,75 ± 0,77 ab	80,00 ± 4,10 b
Nim CL ₉₀	5,80 ± 0,95 bc	100,00 ± 0,00 a	4,37 ± 0,61 b	70,00 ± 4,70 c

Tratamento ¹	Pré-pupa ²		Pupa ²	
	Duração	Sobrevivência	Duração	Sobrevivência
Testemunha	1,00 ± 0,00 a	100,00 ± 0,00 a	3,80 ± 0,41 a	100,00 ± 0,00 a
Fumo CL ₅₀	1,12 ± 0,34 a	80,00 ± 4,10 b	3,85 ± 0,86 ab	70,00 ± 4,70 b
Fumo CL ₉₀	1,20 ± 0,42 a	50,00 ± 5,10 d	3,00 ± 0,00 b	40,00 ± 5,02 c
Nim CL ₅₀	1,12 ± 0,34 a	80,00 ± 4,10 b	3,57 ± 0,76 ab	70,00 ± 4,70 b
Nim CL ₉₀	1,20 ± 0,42 a	65,00 ± 3,66 c	3,30 ± 0,48 ab	30,00 ± 4,70 d

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade.

Contudo, no 4º instar larval houve menor porcentagem de sobrevivência na CL₉₀ de nim em relação aos demais tratamentos avaliados, com a maior duração do instar observado, sendo que na avaliação da sobrevivência das larvas a CL₅₀ de ambos os produtos não diferiram entre si, mas as CL₉₀ apresentaram diferença de todos os

tratamentos analisados, sendo que a CL₉₀ de fumo apresentando a menor porcentagem de sobrevivência (Tabela 5).

Analisando o desenvolvimento da pré-pupa não houve diferença entre os tratamentos em relação ao tempo de duração, havendo somente diferença na porcentagem de sobreviventes da CL₉₀ de fumo, fato este que esta relacionada à redução da sobrevivência das larvas do quarto instar a mudança de fase. No estágio de pupa a CL₉₀ de fumo foi a que diferiu do tratamento controle em relação à duração de mudança de fase, e analisando a sobrevivência a CL₉₀ de fumo e de nim, estas apresentaram menor porcentagem diferindo entre si, e dos demais tratamentos analisados (Tabela 5).

Há diferença entres os tratamentos quando avaliado a porcentagem de emergência dos adultos, provenientes das larvas de terceiro instar de *C. maculata* alimentadas com pulgões tratados. A menor porcentagem foi observada no tratamento CL₉₀ de nim, e nos tratamentos da CL₉₀ de fumo e CL₅₀ nim diferindo do tratamento controle (Tabela 6). Em relação ao peso dos adultos, foi observada diferença significativa da CL₉₀ de nim em relação aos demais tratamentos, este fato estar relacionado ao menor número de insetos adultos emergidos, fazendo com que a média do peso seja maior que os demais tratamentos.

Tabela 6. Emergência (%) e peso (g) de adultos de *Coleomegilla maculata* provenientes de larvas de 3º instar alimentadas com *Myzus persicae* tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para esse pulgão (25± 2°C; 60 ± 10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Emergência de Adultos (%) ²	Peso adulto (g) ²
Testemunha	95,00 ± 2,23 a	0,01378 ± 0,0014 a
Fumo CL ₅₀	65,00 ± 4,89 b	0,01290 ± 0,0056 ab
Fumo CL ₉₀	40,00 ± 5,02 c	0,01179 ± 0,0045 ab
Nim CL ₅₀	50,00 ± 5,12 c	0,01623 ± 0,0017 ab
Nim CL ₉₀	30,00 ± 4,70 d	0,01828 ± 0,0026 b

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade

O efeito de alteração da duração do tempo de desenvolvimento e da porcentagem de sobrevivência das larvas, pré-pupa, pupa e emergência de adultos está

relacionada aos efeitos inseticidas presentes no extrato alcoólico de fumo, e nim (CL₅₀ e CL₉₀), sendo a nicotina o princípio ativo com efeito inseticida do fumo, que atua no sistema nervoso (AGUIAR-MENEZES, 2005) e a azadiractina principal composto com efeito inseticida do nim, que atua na síntese do ecdisônio, biossíntese da quitina, deformações em pupas e em adultos, redução da fecundidade e da longevidade de adultos, alterações na capacidade de atração dos feromônios, esterilização e inibição da oviposição (MORDUE & NISBET, 2000; SHANNAG et al., 2014)

O efeito de prolongamento de fase pode ser atribuído à atuação da azadiractina sobre os processos de troca de tegumento e redução da alimentação dos insetos, interferindo no desenvolvimento (ISMAN, 2006; COSME et al., 2007). Em pesquisas realizada por Venzon et al (2007) com larvas de *Eriops connexa*, os autores observaram mortalidade superior a testemunha quanto tratadas com extrato de semente de nim a 0,25% e 0,50%, e redução da viabilidade das pupas para 9% e 10% , e nenhuma emergência de adultos quando comparados a testemunha água. Entre os tratamentos foram observadas pupas deformadas na CL₅₀ e CL₉₀ de nim e no tratamento com a CL₉₀ de fumo (Figuras 1 e 2).

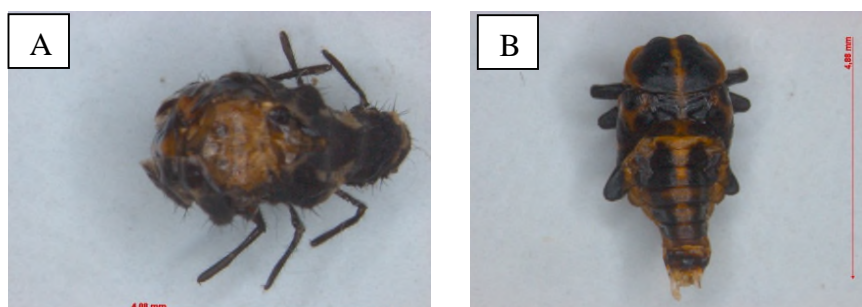


Figura 1. Deformações na pupa de *Coleomegilla maculata* (vista dorsal) oriundas de larvas de 3º instar com CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) de extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*).

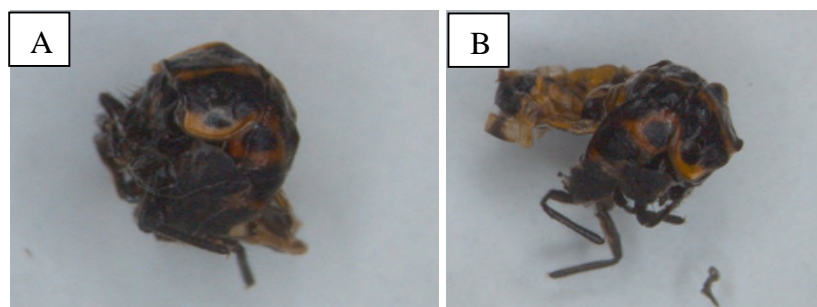


Figura 2. Deformações na pupa de *Coleomegilla maculata* oriundas de larvas de 3º instar com CL₉₀ (A e B) de fumo (*Nicotiana tabacum*).

Entres os adultos emergidos dos provenientes dos testes, foi observado emergência de insetos adultos com deformação nos élitros e nas asas membranosas na CL₅₀ e CL₉₀ de nim e na CL₉₀ de fumo (Figura 3).

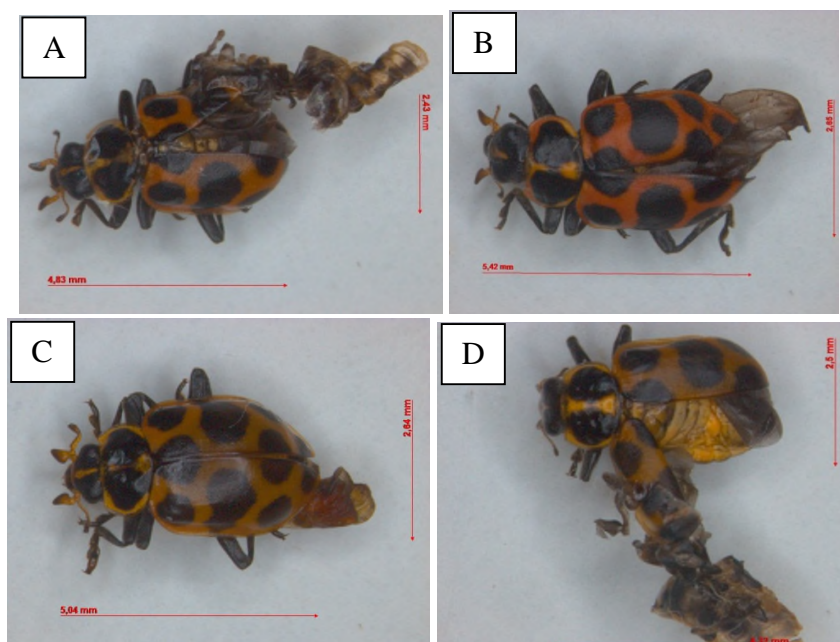


Figura 3. Deformação em adultos de *Coleomegilla maculata* (vista dorsal) oriundos de larvas de 3º instar tratadas com CL₅₀ (A) e CL₉₀ (B) de nim (*Azadirachta indica*) e CL₉₀ de fumo (*Nicotiana tabacum*) (C e D).

Os adultos considerados normais apresentaram após um periodo de 2 horas de emergência, élitros vermelhos com pintas pretas, coloração típica da *C. maculata* (Figura 4).



Figura 4. Adulto normal oriundo de larva de 3º instar proveniente da testemunha de *Coleomegilla maculata* em vista dorsal.

Na pesquisa desenvolvida por Lixa (2013) que avaliou o efeito dos produtos Natuneem[®] 2,0% e Nim-I-Go[®] 1,0% e 2,0% sobre larvas de *C. maculata*, foi observado

deformidades nos élitros e nas asas membranosas de adultos de *C. maculata*. Este estudo corrobora com os resultados apresentados, onde as concentrações letais de extrato alcoólico de nim afetaram o desenvolvimento das larvas, pupas e adultos, causando anormalidade morfológica nos insetos. Banken & Stark (1997) descreveram que produtos a base de nim causaram deformação nas asas, quando aplicados nas formas jovens de *Coccinella septempunctata* Linnaeus (Coleoptera: Coccinellidae).

3.3. Efeitos dos Extratos Botânicos nos Adultos de *C. maculata* via Ingestão de Pulgões Tratados.

Não houve diferença entres os tratamentos em relação à sobrevivência dos adultos de joaninhas por um periodo de 30 dias após o acasalamento, sendo estes alimentados uma única vez com pulgões tratados com extrato de fumo e nim na CL₅₀ e CL₉₀ (Tabela 7).

Tabela 7. Sobrevivência de adultos (%), número total de posturas e ovos, e a média de ovos por postura e eclosão de larvas provenientes de adultos de *Coleomegilla maculata*, alimentados com *Myzus persicae* tratados com extrato de fumo (*Nicotiana tabacum*) e nim (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para esse pulgão (25 ± 2°C; 60 ± 10% UR; fotofase de 12 h).

Tratamento ¹	Sobrevivência Adultos (%)	Nº total de posturas	Nº total de ovos	Média de ovos por postura	Eclosão (%)
Testemunha	100,00 ± 0,00 a	39,00	498	12,77	64,64 ± 3,60 a
Fumo CL ₅₀	100,00 ± 0,00 a	25,00	246	9,84	49,14 ± 4,47 b
Fumo CL ₉₀	100,00 ± 0,00 a	42,00	712	16,95	54,11 ± 3,49 b
Nim CL ₅₀	100,00 ± 0,00 a	25,00	380	15,20	38,26 ± 4,18 c
Nim CL ₉₀	100,00 ± 0,00 a	23,00	263	11,43	67,91 ± 3,31 a

¹Fumo 50 e Fumo 90 = solução de extrato de fumo na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), Nim 50 e 90 = solução de extrato de nim na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae*, respectivamente + Tween[®] 80 (0,05%), testemunha = água destilada + Tween[®] 80 (0,05%).

²Médias seguida de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% probabilidade

De acordo com as pesquisas de Efrom et al. (2011) estudando o efeito dos produtos Organic neem[®] e Natuneem[®] em diferentes concentrações, por aplicação tópica e exposição de resíduos sobre adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* não encontraram diferenças significativas na sobrevivência entres os tratamentos testados.

O mesmo foi observado por Lixa (2013) avaliando diferentes produtos fitossanitários (Agrobio, Calda Sulfocálcica, Natuneem[®], Nim-I-Go[®] e Rotenat[®]) sobre

adultos de *C. maculata*, onde 10 dias após aplicação dos produtos não observou diferença significativa na sobrevivência entre os tratamentos. Desta forma, fica evidente o baixo nível de toxicidade dos produtos testados fornecidos no alimento aos adultos de *C. maculata* em condições laboratório.

Em todos os tratamentos foram observados a presença de postura e o número total de ovos por tratamento, e calculado a média de ovos/postura, estando os valores analisados dentro dos parâmetros citados pela literatura (Tabela 7). Segundo Wright & Laing (1980), a média de ovos por postura observada para *C. maculata* subespécie *lengi* foi de 10,5 ovos/postura, quando alimentada com *Rhopalosiphum maidis* (Fitch, 1856) (Hemiptera: Aphididae) como dieta para os adultos. D'Ávila (2012) testando cinco diferentes dietas em *C. maculata* registrou variação de 9,8 a 15,46 ovos por postura, em condições de laboratório. Lixa (2013) testando diferentes produtos fitossanitários em laboratório (Agrobio, Calda Sulfocálcica, Natuneem[®], Nim-I-Go[®] e Rotenat[®]) sobre adultos de *C. maculata* obteve uma variação média de 9 a 20 ovos por postura.

A porcentagem de eclosão das larvas foi afetada nos diferentes tratamentos, sendo que a CL₅₀ de *A. indica* foi a que apresentou o menor percentual de eclosão em relação aos demais tratamentos. A utilização da CL₅₀ e CL₉₀ de *N. tabacum* foi significativamente diferente da testemunha e do tratamento com a CL₉₀ de *A. indica*, quando aplicados no pulgão e fornecidos como alimentos aos adultos de *C. maculata*, em condições de laboratório

Esta redução da porcentagem de eclosão provavelmente está relacionada aos efeitos inseticidas dos extratos atuando na fisiologia do ovo e no comportamento dos insetos. De acordo com Cosme et al. (2007), avaliando o efeito da azadirachtina e de alguns inseticidas sintéticos usados na cultura do algodão sobre ovos de *Cycloneda sanguinea* (Linnaeus, 1763) (Coleoptera: Coccinellidae), independente da concentração utilizada, a azadirachtina foi nociva aos embriões do predador, sendo tão prejudicial quando clorpirifós e teflubenzurom.

A redução da viabilidade dos ovos procedentes de joaninhas que se alimentaram com pulgões tratados com fumo (CL₅₀ e CL₉₀), provavelmente está relacionada ao efeito da nicotina atuando no sistema nervoso do inseto, afetando sua capacidade reprodutiva, interferindo no acasalamento e ocasionando baixa fertilidade dos ovos.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos a partir da aplicação do extrato de nim (*Nicotiana tabacum*) e fumo (*Azadirachta indica*) na CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* sobre ovos de *Coleomegilla maculata*, e da aplicação sobre esses pulgões fornecidos como presa para larvas de 3º instar e adultos de *C. maculata* em condições de laboratório, conclui-se:

Efeitos dos extratos botânicos sobre ovos de *C. maculata*

A pulverização dos extratos de fumo e nim nas concentrações letais 1,73 e 0,77 mL (CL₅₀) e 10,50 e 3,69 mL (CL₉₀) para *Myzus persicae*, diretamente sobre ovos de *C. maculata*, não exercem influência sobre o período embrionário, a duração média de cada fase de desenvolvimento larval, período larval, ciclo biológico, peso, comprimento e largura do inseto;

A viabilidade dos ovos de *C. maculata*, bem como a sobrevivência de cada fase de desenvolvimento, e a porcentagem de emergência dos adultos foram reduzidas pelo efeito dos extratos de fumo e nim, nas CL₅₀ e CL₉₀, quando pulverizados diretamente sobre ovos do predador;

Efeitos dos Extratos Botânicos em larvas de 3º Instar de *C. maculata*

As larvas de terceiro instar de *C. maculata* alimentadas com pulgões tratados com extratos de fumo e nim, nas concentrações letais 1,73 e 0,77 mL (CL₅₀) e 10,50 e 3,69 mL (CL₉₀) em condições experimentais, constatou redução na porcentagem de sobrevivência, e alteração no tempo de desenvolvimento de cada fase até a emergência dos adultos;

Efeitos dos Extratos Botânicos em Adultos de *C. maculata*

Adultos de *C. maculata* alimentados com pulgões tratados com extratos de fumo e nim nas CL₅₀ e CL₉₀ para *Myzus persicae* apresentam redução na porcentagem de eclosão, mas nenhuma interferência na sobrevivência, demonstrando não ter efeito sobre os adultos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Capítulo I - Ação inseticida de extratos de fumo e nim sobre *Myzus persicae*.

Os extratos alcoólicos de folhas de nim e fumo apresentam efeito inseticida sobre *Myzus persicae* em condições de laboratório, acarretando a mortalidade dos adultos e redução do número de ninfas, à medida que aumentou a concentração.

O extrato alcoólico de folhas de nim causa maior porcentagem de mortalidade de adultos e redução da produção de ninfas de *M. persicae* em relação ao fumo, porém ambos na concentração acima de 0,5% apresentam eficiência no controle de pulgões adultos após 72 horas de pulverização.

A concentração letal para *M. persicae* dos extratos de fumo e nim e de 1,73 e 0,77 mL (CL50) e 10,50 e 3,69 mL (CL90) em condições experimentais.

Capítulo II - Efeitos direto e indireto de extratos de fumo e nim sobre *Coleomegilla maculata* DeGeer (Coleoptera: Coccinellidae) alimentadas com *Myzus persicae* (Sulzer) (Hemiptera: Aphididae) tratados com os extratos em laboratório.

A concentração letal para *M. persicae* dos extratos alcoólicos de folhas de fumo e nim e de 1,73 e 0,77 mL (CL50) e 10,50 e 3,69 mL (CL90), quando pulverizados sobre ovos de *C. maculata* reduz a porcentagem de viabilidade ovos, bem como o desenvolvimento de cada fase até a porcentagem emergência de adultos.

As larvas de terceiro instar de *C. maculata* alimentadas com pulgões tratados nas CL₅₀ e CL₉₀ de extrato fumo e nim, apresenta mortalidade nas fases de desenvolvimento, com redução porcentagem adultos emergidos, apresentando indivíduos com deformações.

Os adultos de *C. maculata* quando alimentados com pulgões tratados nas CL₅₀ e CL₉₀ de extrato fumo e nim, apresentam redução da porcentagem eclosão dos ovos, mas a sobrevivência destes casais não é afetada pelos tratamentos.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

ABBOTT, W. S. A method of comparing the effectiveness of an insecticide. **Journal of Economic Entomology**, v. 18, p. 265-267, 1925.

ALTIERI, M. **Agroecologia: bases científicas para uma agricultura sustentável**. Guaíba: Agropecuária, AS-PTA, 592p. 2003.

AGUIAR-MENEZES, E. de L.; MENEZES, E. B. Bases ecológicas das interações entre insetos e plantas no manejo ecológico de pragas agrícolas. In: AQUINO, A.M.; ASSIS, R.L. (Ed.). **Agroecologia, princípio e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Brasília: Embrapa Informação tecnológica, 2005.p. 323-386.

AGUIAR-MENEZES, E. L. **Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas**. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003, 44p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).

AGUIAR-MENEZES, E. L. Controle biológico: na busca pela sustentabilidade da agricultura brasileira. **Campo & Negócios**, Uberlândia, v. 4, n. 42, p. 66-67, 2006.

BAHLAI, C. A.; XUE, Y.; MCCREARY, C. M.; SCHAAFSMA, A. W.; HALLETT, R. H. Choosing organic pesticides over synthetic pesticides may not effectively mitigate environmental risk in soybeans. **Plos One**, v. 5, n. 6, p. 11250, 2010.

BANKEN, J. A. O.; STARK, J. D. Multiple routes of pesticide exposure and the risk of pesticides to biological control: a study of neem and the sevenspot lady beetle, *Coccinella septempunctata* L. **Journal of Economic Entomology**. v.91, n.1, p. 1-6, 1998.

BANKEN, J. A. O.; STARK, J. D. Stage and 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.

COSME L. V.; CARVALHO G. A.; MOURA A. P. Efeitos de inseticidas botânico e sintéticos sobre ovos e larvas de *Cycloneda sanguinea* (linnaeus) (Coleoptera: Coccinellidae) em condições de laboratório. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.74, n.3, p.251-258, 2007.

D'ÁVILA, V. de A. **Aceitação de polens de apiaceae por *Coleomegilla maculata* (Degeer) (Coleoptera: Coccinellidae) e efeito de diferentes dietas na sua biologia**. 74f. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) - Universidade Federal Rural do Rio De Janeiro, Seropédica, 2012.

EFROM, C. F. S., REDAELLI, L. R., MEIRELLES, R. N., & OURIQUE, C. B. Seletividade de produtos fitossanitários, usados no sistema de produção orgânica, sobre adultos de *Cryptolaemus montrouzieri* (Coleoptera, Coccinellidae), em laboratório. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 32, n. 4, p. 1429-1438, 2011.

FERREIRA, DANIEL FURTADO. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia** (UFLA), v. 35, n.6, p. 1039-1042, 2011.

FERREIRA, E. B; GONÇALVES, S. G.; BICHO, C. de L. Eficiência de produtos à base de nim aplicados em vagens de amendoim armazenado, sobre *Alphitobius diaperinus* (Panzer)(Coleoptera: Tenebrionidae). **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 9, n. 2, p. 07-09, 2014.

GORDON, R. D. West Indian Coccinellidae II (Coleoptera): Some scale predators with key to genera and species. **Colept Bull**, v.32, p.205-218, 1978.

HOLTZ, A. M., RONDELLI, V. M., CELESTINO, F. N., BESTETE, L. R., & DE CARVALHO, J. R. **Pragas das brássicas**. Colatina, ES: IFES, 230 p. 2015.

HODEK, I. **Biology of Coccinellidae**. Prague: Academic of Sciences, 1973. 260p.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides, deterrents, and repellents in modern agriculture and an increasingly regulated world. **Annual Revist Entomology**. v. 51, p.45-66, 2006.

LIXA, A. T. **Coccinellidae (Coleoptera) usando plantas aromáticas como sítio de sobrevivência e reprodução em sistema agroecológico, e aspectos biológicos em condições de laboratório**. 77p. 2008. Dissertação (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

LIXA, A. T. **Bioecologia de Joaninhas Predadoras em Sistema Orgânico Diversificado e Efeitos de Defensivos Alternativos sobre Coleomegilla maculata (Coleoptera: Coccinellidae) em Laboratório**. 96p. 2013. Tese (Doutorado em Fitotecnia)- Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.

MICHAUD, J. P., JYOTI, J. L. Dietary complementation across life stages in the polyphagous lady beetle *Coleomegilla maculata*. **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v. 126, n. 1, p. 40-45, 2008.

NEVES, M. C. P.; GUERRA, J. G. M.; CARVALHO, S. R.; RIBEIRO, R. L. D.; ALMEIDA, D. L. Sistema integrado de produção agroecológica ou Fazendinha Agroecológica Km 47. In: AQUINO AM; ASSIS RL. (eds.). **Agroecologia: princípios e técnicas para uma agricultura orgânica sustentável**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2005. p. 147-172.

OLIVEIRA, J. M. D. **Potencial de extratos vegetais no controle de Polyphagotarsonemus latus, Tetranychus urticae e Myzus persicae**. 57p. 2013. Dissertação (Mestrado Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

OBRYCKI, J. J.; TAUBER, M. J. Thermal requirements for development of *Coleomegilla maculata* (Coleoptera: Coccinellidae) and its parasite *Perilitus coccinellae* (Hymenoptera: Braconidae). **The Canadian Entomologist**, Ottawa, v. 110, p. 407-412, 1978.

RIBEIRO, L. D. P., DEQUECH, S., RIGO, D., FERREIRA, F., SAUSEN, C., STURZA, V., & CÂMERA, C. Toxicidade de inseticidas botânicos sobre *Eriopis connexa* (Coleoptera: Coccinellidae). *Revista da FZVA*, v.16,p. 246-254, 2009.

SIMPSON, R. G.; BURKHARDT, C. C. Biology and evaluation of certain predators of *Theriophis maculata* (Buckton). *Journal of Economic Entomology*, v. 53, p. 89-94, 1960.

VENZON, M., DA CONSOLAÇÃO ROSADO, M., PALLINI, A., FIALHO, A., DE JESUS PEREIRA, C.. Toxicidade letal e subletal do nim sobre o pulgão-verde e seu predador *Eriopis connexa*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.42, n.5, p.627- 631 2007.

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.

ZANUNCIO, J. C.; MOURÃO, S. A.; MARTÍNEZ, L. C.; WILCKEN, C. F.; RAMALHO, F. S.; PLATA-RUEDA, A.; SERRÃO, J. E. Toxic effects of the neem oil (*Azadirachta indica*) formulation on the stink bug predator, *Podisus nigrispinus* (Heteroptera: Pentatomidae). *Scientific reports*, v. 6, p.1-8, 2016.

WRIGHT, E. J.; LAING, J. E. Numerical response of coccinellids to aphids in corn in Southern Ontario. *The Canadian Entomologist*, v. 112, n. 10, p. 977-988, 1980.