EFEITO DA DOSE SUBLETAL DO EXTRATO DE *AZADIRACHTA INDICA* NO COMPORTAMENTO DE *SITOPHILUS ZEAMAIS MOTS*

SABRINA RODRIGUES FERREIRA[1], JÚLIO CLÁUDIO MARTINS[2], ÉZIO MARQUES DA SILVA[3], JOSÉ CARLOS BARBOSA DOS SANTOS[4], RICARDO SIQUEIRA DA SILVA[5].

[1]Acad. Agronomia, Bolsista de Iniciação Científica CNPq, UFVJM, Diamantina-MG, sabrina.rodrigues@ufvjm.edu.br;
[2]Dr. em Entomologia, Prof. IFBaiano, Teixeira de Freitas- BA, julioufv@gmail.com;
[3] Dr. em Entomologia, Prof. UFV, Rio Paranaíba- MG, eziomsilva@gmail.com;
[4]Acad. Agronomia, Bolsista de Iniciação Científica CNPq, UFVJM, Diamantina-MG, josé.santos@uvjm.edu.br;
[5]Dr. em Fitossanidade, Prof. Adj. UFVJM, Diamantina-MG, ricardo.ufvjm@gmail.com.

Apresentado no
Congresso Técnico Científico da Engenharia e da Agronomia – CONTECC
15 a 17 de setembro de 2021

RESUMO: A etologia dos insetos é um fator importante quando se deseja realizar o manejo de pragas, através deste conhecimento podem-se manipular as atividades comportamentais, repelir ou atrair insetos de acordo com as necessidades e interesses. *Sitophilus zeamais Mots*, uma das principais pragas de grãos armazenados vêm sendo alvo de modificações comportamentais através de substancias naturais devido a ocorrência de resistência deste à diversas classes inseticidas. Com isso o presente trabalho objetivou avaliar o efeito de doses subletais do extrato de nim no comportamento deste inseto. Os bioensaios foram realizados no laboratório de manejo integrado de pragas (MIP) da UFV. Observou-se que o extrato de Nim teve efeito atrativo sobre o inseto, que reagiu apresentando um caminhamento específico devido ao estímulo proveniente do extrato de Nim.
PALAVRAS-CHAVE: Controle biológico, nim, manejo integrado de pragas.

EFFECT OF THE SUBLETHAL DOSE OF *Azadiracta indica* EXTRACT ON THE BEHAVIOR OF *Sitophilus zeamais mots*

ABSTRACT: The ethology of insects is an important factor when you want to carry out pest management through this knowledge they can be manipulated as behavioral activities, repelling or attracting insects according to needs and interests. *Sitophilus zeamais Mots*, one of the main pests of accumulated yields, target of behavioral changes through natural substances due to the occurrence of resistance to different classes of insecticides. Thus, the present work aimed to evaluate the effect of sublethal doses of neem extract on the behavior of this insect. The bioassays were carried out in the integrated pest management laboratory at UFV. Note that neem extract had the attraction effect on the insect, which reacted in a specific way due to the stimulus from the neem extract.
KEYWORDS: Biological control, neem, integrated pest management.

INTRODUÇÃO

O sucesso dos insetos deriva em parte da capacidade que estes possuem de interpretar os estímulos em seus arredores (GULLAN, 2017). No entanto esta capacidade sensitiva também pode está ligada ao insucesso dos mesmos quando bem empregada no manejo de pragas, visto que estímulos artificiais podem modificar seus comportamentos visando interesses agronômicos. As doses subletais apresentam efeitos satisfatórios neste contexto. Lee (2000) afirma que a maioria das pragas de insetos mostram redução de fecundidade e longevidade e interrupção no comportamento centrado em atividades ao entrar em contato com as doses subletais de inseticidas. No entanto estudos são necessários para o conhecimento de quais produtos, dosagens e formas de aplicabilidade resultarão nos melhores resultados.

O gorgulho-do-milho, *Sitophilus zeamais Mots*., 1855, (Coleoptera: Curculionidae) destaca-se como uma das principais pragas associadas aos grãos armazenados no Brasil, principalmente, grãos de milho, arroz e trigo (Gallo et al. 2002). No entanto não menos importante tem-se também sua infestação ao nível de campo. Características como: grande número de hospedeiros, elevado potencial biótico, alta capacidade de penetração na massa de grãos e resistência à diferentes inseticidas sintéticos (GUEDES et. al., 1995), contribuem para proliferação da praga em questão.

Plantas com ações inseticidas têm sido utilizadas como método alternativo de controle do *S. zeamais*, por meio de formulações em pó, óleos e extratos. O suco do alho e as folhas de arruda têm se mostrado eficientes no controle *S. zeamais* (Nwachkwu, 2014; PERERA, 2017). *Azadirachta indica* popularmente conhecida por nim, também tem se destacado no controle de *S. zeamais* e outras espécies de insetos. Nukenine (2011), obteve resultados significativos na taxa de mortalidade de *S. zemais*, além da redução de progênie e população e aumento na taxa germinativa dos grãos de milho tratados utilizando o óleo da semente de nim e produto comercial a base de *A. indica* (NeemAzal).

A utilização de produtos naturais no controle de praga apresenta vantagens como baixa persistência no ambiente, controle rápido da praga e baixa toxidade ao homem (CLOYD, 2004). Contudo deve-se ressaltar que a atividade biológica de um composto pode não está associada à mortalidade causada por ele. Efeitos subletais podem ser tão ou mais importantes que efeitos letais, o que normalmente não é considerado neste tipo de investigação que se baseia em ação letal aguda variável, podendo ser tóxico, repelente, atrativo, causar esterilidade, modificar o comportamento, o desenvolvimento ou reduzir a alimentação (ARNASON et al., 1990; BELL et al., 1990). Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi verificar o efeito da dose subletal do extrato de *A. indica* no comportamento de *S. zeamais*.

MATERIAL E MÉTODOS

Os bioensaios comportamentais foram realizados no laboratório de Manejo Integrado de Pragas da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, Brasil. Sendo os insetos utilizados provenientes de criações deste laboratório, sob as seguintes condições: Frascos de vidro contendo grãos de milho como fonte de alimentação e condições de umidade e temperatura ambiente.

Para a obtenção do extrato de nim foi utilizado cerca de 3,248 kg de frutos frescos coletados no Campus da UFV, o material in natura foi picado em fragmentos de 1 a 2 cm e acondicionados em erlemeyers para extração. Adicionou-se hexano em quantidade suficiente para a imersão completa do material vegetal. A cada 2 dias o solvente contendo o extrato foi removido e concentrado em evaporador rotativo a baixa pressão e temperatura reduzida (<50°C). A extração por hexano foi realizada durante 20 dias e o extrato resultante foi armazenado sob refrigeração a ultra baixa temperatura para uso posterior nos testes biológicos.

Os bioensaios foram realizados em placas de Petri (15 cm de diâmetro), sendo o fundo coberto com papel, para facilitar o deslocamento do inseto. As bordas das placas foram cobertas com talco para evitar a saída do inseto e restringir sua movimentação somente no fundo da placa. Os insetos na pré-visualização mostraram-se muito agitados, quando retirados dos frascos de criação e transferidos para a placa do experimento. Por isso, os insetos foram separados da criação, tratados e posicionados na região central da placa. Os tratamentos foram hexano puro (branco) e hexano mais extrato de *A. indica*, sendo utilizados 3,33 mg de extrato / 10 grãos / 2 ml de hexano. Os testes foram realizados em condições de laboratório sob luz constante em temperatura ambiente. Para cada tratamento utilizou-se 2 insetos/ repetição, num total de 10 repetições por tratamento.

Na avaliação do comportamento, dois insetos foram observados por cerca de 30 minutos por repetição, onde o registro foi feito através da anotação do comportamento, quantas vezes foram realizados e o tempo gasto neste em segundos. Para isso um dos insetos foi marcado com uma tinta verde a base de água a fim de diferencia-los. O comportamento de caminhamento foi registrado com a saída do inseto da borda da placa. Através das observações do comportamento construiu-se um etograma. Os dados obtidos foram transformados conforme a equação ($\sqrt{x+0,5}$), a fim de homogeneizar as variâncias. Depois de transformados, os dados foram submetidos à análise de variância e as médias separadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando o programa SAEG-5.0. Para a representação gráfica dos resultados utilizou se os dados não transformados e os tempos foram convertidos em minutos.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na avaliação dos efeitos subletais do extrato de Nim ao *S. zeamais* foram detectadas diferenças significativas no comportamento do inseto em função do período de latência (fig. 1) ($F_{2;38}$= 3,59; p<0,05), número de visitas a massa de grãos ($F_{2;57}$= 3,64; p<0.05) e da frequência de caminhamento ($F_{2;57}$= 6,91; p<0,05). Não se detectou diferença significativa no tempo de permanência na massa de grãos (Fig. 2B) ($F_{2;57}$= 1,40p<0,200).

O extrato de nim apresentou menor período de latência em relação à testemunha. O maior tempo médio para que ocorresse o primeiro contato do *S. zeamais* com a massa de grãos foi registrado para a testemunha. Nem todos os insetos tiveram contato com a massa de grãos tratada com o extrato de *A. indica* (fig. 3).

Com relação ao número de vezes que o inseto chegou até a massa de grãos, aquelas tratadas com o extrato de nim foram as que mais vezes o *S. zeamais* teve contato (Fig. 1B). Os insetos ao se deslocarem no sentido da massa apresentam um caminhamento diferente daquele apresentado em torno da borda ou quando deixavam a massa de grãos. O movimento apresentado pelos insetos é um caminhamento serpenteado, saindo da borda em direção à massa de grãos. Esse movimento é acompanhado das antenas estendidas, com movimentação da cabeça para cima e para baixo para direita e para esquerda até a chegada à massa de grãos, onde eles então sobem na massa podendo permanecer ou sair desta. Ao deixar a massa os insetos podem ir para a borda, mas em alguns casos, podem voltar para massa. No ensaio somente 2 insetos se dirigiram diretamente para a borda e 5 insetos permaneceram andando pela placa sem, contudo ter contato com a massa de grãos após o primeiro contato em nenhum dos tratamentos.

O caminhamento e permanência do *S. zeamais* no tratamento com extrato de nim foi superior ao da testemunha (fig.2A).

Figura 1. **A)** Tempo (média ± erro padrão) em minutos gasto pelo inseto para chegar pela primeira vez na massa de grãos. As barras seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). **B)** Número de vezes (média ± erro padrão) que o inseto chegou até a massa de grãos. As barras seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

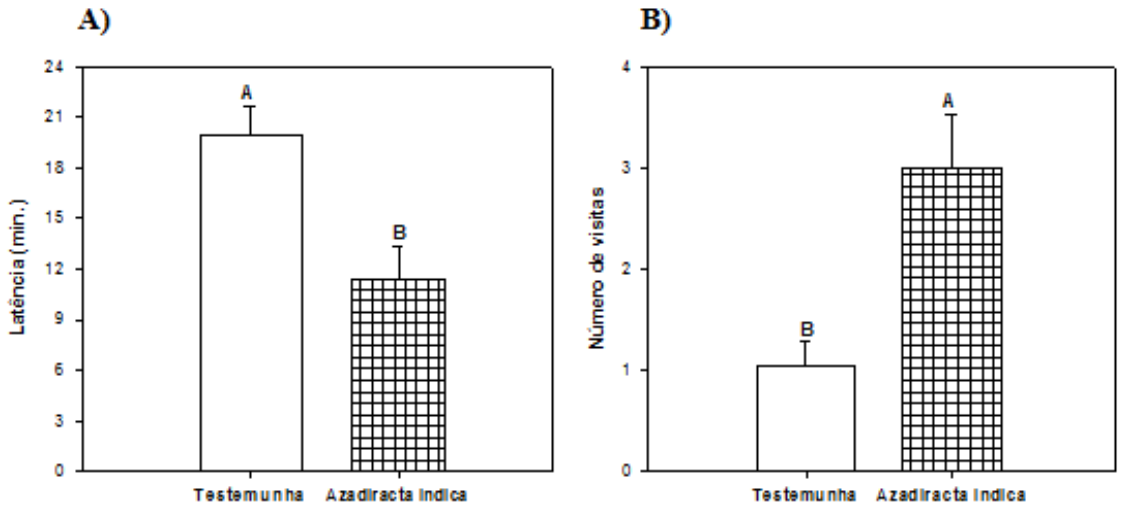


Figura 2. **A)** Freqüência (média ± erro padrão) de vezes que o inseto caminhou em um intervalo de tempo de 30 minutos. As barras seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05). **B)** Tempo (média ± erro padrão) de permanência na massa de grãos em minutos. As barras seguidas da mesma letra maiúscula não diferem entre si pelo teste de Tukey (p<0,05).

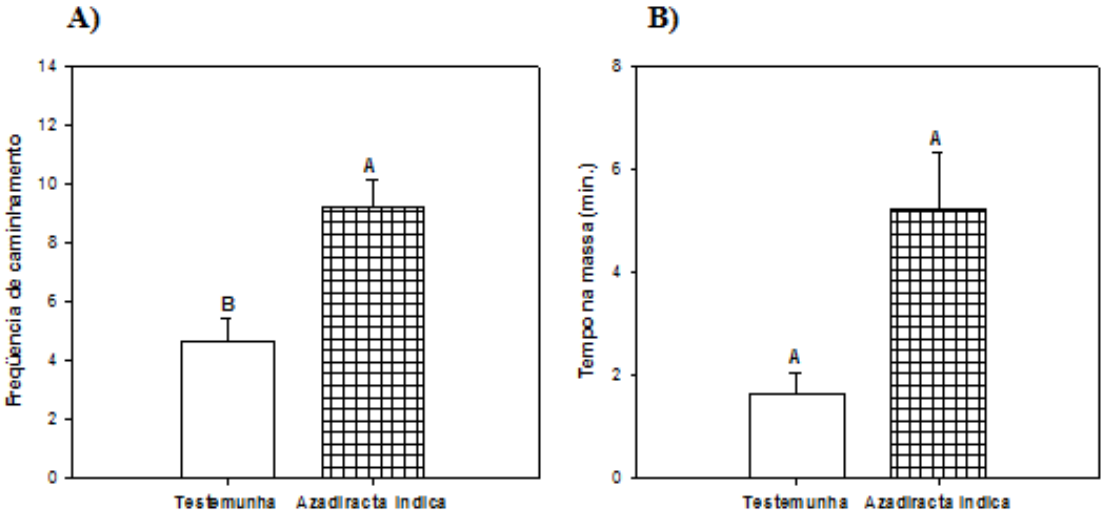
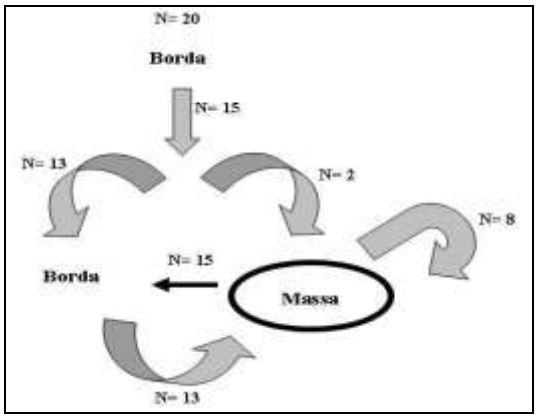


Figura 3. Etograma do comportamento de *S. zeamais* em presença do extrato da planta *A. indica.*



O efeito do composto de plantas tendo um efeito sobre insetos, sobretudo Coleópteros tem sido o objetivo de alguns trabalhos (HORI 2004, SILVA & MARTINEZ 2004). O Extrato de nim tem influência no comportamento e na fisiologia de insetos, incluindo os efeitos na reprodução, redução da alimentação, aumento da mortalidade e ocorrência de ecdises anormais e tardias (LUNTZ & NISBET 2000, BARBOSA et al. 2005). Mas não se tem relatos do efeito de atratividade sobre insetos. A atratividade de compostos de origem vegetal a *S. zeamais* foi comprovada por Tavares & Vendramim (2005), esses constataram a atratividade de adultos de *S. zeamais* em parcelas de grãos tratadas com um pó óbito da Erva-de-Santa-Maria *Chenopodium ambrosioides L.* (Chenopodiaceae).

Neste trabalho o extrato de nim teve um efeito atrativo sobre o inseto estudado. Fato evidenciado pela alteração do comportamento inseto quando estimulado pelo odor do milho combinado com voláteis do composto testado, resultando um *mix* mais atrativo que o milho sozinho. Dickens (2005) concluiu em seu trabalho que machos e fêmeas de *Leptinotarsa decemlineata Say* (Coleoptero: Chrysomelidae) tiveram uma maior resposta quanto ao feromonio de agregação produzido pelo macho juntamente com substâncias atrativas de suas plantas hospedeiras.

Alguns insetos respondem de forma diferente a uma mesma substância quando varia-se a sua dose. Ao se reduzir esta dosagem uma substância que possui característica repelente pode vir a se tornar atrativo para o inseto (HORI, 2003). Fato que explica o maior número de visitas e caminhamento, sem, contudo ter uma permanência maior na massa de grãos devido a concetração (pode) não ser a ideal para sse ter um estímulo mais atrativo ao *S. zeamais*. Oliveira e Vendramim (1999) verificaram que com a redução da dose de 5 para 0,5 ml de óleo de nim/ kg de feijão, houve um aumento no número de *Zabrotes subfasciatus* (*boh.)* (Coleoptera: Bruchidae) atraídos.

CONCLUSÃO

Concluímos que os efeitos subletais dos compostos de plantas com efeito inseticidas podem ser empregados em programas de controle de pragas, no sentido de monitoramento e também como repelente a insetos. Estudos ainda são necessários no sentido de esclarecer esses efeitos subletais sobre *S. zeamais* em função de uma curva dose resposta e ainda qual a implicação dessas doses subletais no processo de resistência do inseto.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao grupo de estudos em Agricultura e Modelagem ecológica (AgriMe).

REFERÊNCIAS

Almeida, F. A. C.; Almeida, S.A. de; Santos, N. R. dos; Gomes, J. P.; Araújo, M. E. R. Efeitos de extratos alcoólico de plantas sobre o caruncho do feijão vigna (Callosobruchus maculatu). Rev. Bras. Eng. Agríc. Amb. 9: 585-590, 2005.

Herausgegeben von, J. T.; Arnason, B. J. R.; Philogene und P. Morand. Insecticide of plant origin. Washington, DC, Am. Chem. Soc. 214p, 1990.

Barbosa, F. R.; Yokoyama, M.; Pereira, P. A. A.; Zimmermann, F. J. P. Controle do caruncho-do-feijoeiro Zabrotes subfasciatus com óleos vegetais, munha, materiais inertes e malathion. Pesq. agropec. bras. 37: 1213-1217, 2002.

Bell, E. A.; Fellows, L. E.; Simmonds, M. S. J. Natural products from plants for the control of insect pests. Pages 337-350 In: Hodgson, E. and R.J. Kuhr. Eds. Safer Insecticides. Development and Use. Marcel Dekker, Inc., New York, NY. 1990, 592p.

Cloyd, R. Natural indeed: Are natural insecticide safer and better then conventional insecticide? Illinois Pest. Rev. 17: 1-3 2004.

Dickens, J. C. Plant volatiles moderate response to aggregation pheromone in Colorado potato beetle J. Appl. Entomol. 130: 26–31, 2006.

Gallo, D.; Nakano, O.; Silveira Neto, S.; Carvalho, R. P. L.; Batista, G. C.; Berti Filho, E.; Parra, J. R. P.; Zucchi, R. A.; Alves, S. B.; Vendramin, J. D.; Marchini, L. C.; Lopes, J. R. S.; Omoto, C. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920 p.

GUEDES, R. N. C.; LIMA, J. O. G.; SANTOS, J. P.; CRUZ, C. D. Resistance to DDT and pyrethroids in Brazilian populations of Sitophilus zeamais Motsch. (Coleoptera: Curculionidae). Journal of Stored Products Research. 145 – 150, 1995.

Gullan, P. J.; Cranston, P. S. The insects an outline of entomology. Oxford, 2014. 632p.

Hori, M. Repellency of hinokitiol against the cigarette beetle, Lasioderma serricorne (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). Appl. Entomol. Zool. 39: 521–526, 2004.

Hori, M. Repellency of essential oils against the cigarette beetle, Lasioderma serricorne (Fabricius) (Coleoptera: Anobiidae). Appl. Entomol. Zool. 38: 467–473, 2003.

Jacobson, M.; Uebel, E. C.; Lusby, W.R.; Waters, R. M. Optical Isomers of a-Copaene Derived from Several Plant Sources. J. Agric. Food Chem. 35: 798-800, 1987.