

**TOLERÂNCIA DE *Gryon gallardoi*, PARASITÓIDE DE OVOS DE *Leptoglossus zonatus* A TRATAMENTOS POR ÓLEO DE SEMENTES DE *Azadirachta indica***

Daniel R. Solis<sup>1</sup>  
Giovanna G. Fagundes<sup>2</sup>  
Mohamed E. M. Habib<sup>3</sup>

**RESUMO**

O objetivo do presente estudo foi analisar os efeitos de uma formulação comercial de óleo de sementes de *Azadirachta indica* A. Juss. (Rutales: Meliaceae) (Nim) em *Gryon gallardoi* Bréthes (Hymenoptera: Scelionidae), parasitóide de ovos de *Leptoglossus zonatus* (Hemiptera: Coreidae), sob condições de laboratório. Quatro concentrações do óleo (0,1; 0,5; 1,0 e 5,0%) foram utilizadas em dois bioensaios para avaliar possíveis alterações na longevidade, no comportamento de parasitismo, tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos e razão sexual do parasitóide. Observou-se que a longevidade foi significativamente reduzida nos adultos alimentados com solução açucarada contendo Nim nas concentrações mencionadas. A única exceção para este resultado foi constatada em fêmeas tratadas com óleo a 0,1%. Esta redução na longevidade pode ser interpretada como consequência de processos antialimentares causados pelo tratamento com o extrato vegetal nos adultos, especialmente quando oferecido em altas concentrações. Todavia, a emergência de parasitóides em ovos tratados com Nim anteriormente ao parasitismo não foi alterada em nenhuma das concentrações empregadas, evidenciando a aceitação dos ovos hospedeiros pelas fêmeas e sugerindo a ausência de efeitos repelentes. O tempo de desenvolvimento dos estágios imaturos do parasitóide e a razão sexual dos adultos obtidos de ovos do hemíptero hospedeiro tratados com o produto, também não foram alterados. Conclui-se que *G. gallardoi* mostrou-se parcialmente tolerante ao produto comercial à base de Nim, nas condições laboratoriais utilizadas nesta pesquisa. Não obstante, outros estudos devem ser realizados para avaliar a aplicabilidade deste método em condições de campo.

**Palavras-chave:** Insecta, Extratos Vegetais, Nim.

**ABSTRACT****TOLERANCE OF *Gryon gallardoi*, AN EGG PARASITOID OF *Leptoglossus zonatus* TO *Azadirachta indica* SEED OIL EXTRACT.**

This paper deals with the effect of *Azadirachta indica* A. Juss. (Rutales: Meliaceae) (Neem) commercial seed oil extract on *Gryon gallardoi* Bréthes (Hymenoptera: Scelionidae), an egg parasitoid of *Leptoglossus zonatus* (Hemiptera: Coreidae), under laboratory conditions. Four concentrations of the oil (0.1, 0.5, 1.0 e 5.0%) were tested in two bioassays to evaluate possible alterations on the longevity, emergence rate, immature stages duration time and sex ratio of the scelionid parasitoid. The longevity of adults fed on sugar solution containing the neem oil concentrations

<sup>1</sup> Depto. Zoologia, IB, Bolsista SAE/Unicamp, E-mail: entomo75@yahoo.com

<sup>2</sup> Depto. Parasitologia, IB, Unicamp, Bolsista Fapesp.

<sup>3</sup> Depto. Zoologia, IB, Unicamp, C. Postal 6109, 13083-970, Campinas, SP.

was significantly reduced. The only exception being observed in females treated with 0,1% of oil. Most likely the vegetal extract caused an antifeedant behavior in adults, mainly when offered in high concentrations. However, the parasitoid emergence from host eggs treated with Neem before parasitism did not suffer any influence, evidencing host acceptance and the absence of repellence. The duration time of the immature stages and sex ratio, of solitary parasitoids, inside the host eggs topically treated with the product, remained unchanged as well. Thus, *G. gallardoi* showed to be partially tolerant to the commercial neem product, used under laboratory conditions. In addition, other studies should be done to evaluate possible effects of such a product under field conditions.

**Key words:** Insecta, Plant Extracts, Neem.

## INTRODUÇÃO

*Leptoglossus zonatus* (Hemiptera: Coreidae) é um fitófago de importância econômica, descrito como praga em lavouras de milho e laranja no Brasil (De Souza & Amaral Filho, 1999). Além de sua atuação direta como praga, ainda atua indiretamente, podendo proporcionar condições adequadas para a potencialização de fungos fitopatogênicos como *Fusarium moniliforme*, *Penicillium* sp. e *Cephalorium* sp. nos grãos de milho atacados (Sawazaki *et al.*, 1989). O controle convencional desta praga é realizado basicamente através do uso de inseticidas organo-sintéticos. Porém, o uso intensivo desses produtos na agricultura, durante os últimos 50 anos, acarretou em inúmeros problemas ambientais e na saúde humana. Com o aumento da poluição ambiental, custos crescentes das práticas de controle e as pressões para o desenvolvimento de métodos agrícolas de menor impacto, surge a necessidade de busca por métodos alternativos eficientes, e seguros para a saúde e para o ambiente.

Desta maneira, a importância dos inseticidas de origem natural tem crescido durante os últimos anos, devido à sua seletividade, baixa toxicidade em mamíferos, biodegradabilidade e ausência de fitotoxicidade. Dentre esses, os derivados da família Meliaceae vêm se mostrando promissores para o uso em programas de manejo de pragas (Martinez, 2002).

*Azadirachta indica*, conhecida popularmente por Nim, é proveniente da Índia e de Myanmar. Esta planta foi introduzida em toda região tropical e subtropical, e vem sendo utilizada há mais de 2000 anos para o controle de insetos pragas, nematóides, fungos e bactérias no leste asiático. Na semente do Nim, a principal substância ativa é a azadiractina, um dos mais poderosos inseticidas de origem natural. Existem outras substâncias que agem conjuntamente incrementando a ação inseticida, tais como, triterpenóides, geduninas, nimbin e liminóides. A combinação dos princípios ativos do Nim pode ser responsável por vários tipos de processos nocivos aos insetos, tais como repelência, deterrência, anti-oviposição, atividade reguladora de crescimento, esterilidade e ainda distúrbio de processos metabólicos celulares específicos (Martinez, 2002). Vários estudos vêm sendo realizados no sentido de avaliar o potencial desta planta no controle de pragas da cultura de milho (Maredia *et al.*, 1992).

Embora exista um número bastante relevante de estudos sobre os efeitos do Nim contra insetos praga, poucos trabalhos relatam sua ação sobre insetos benéficos, em particular parasitóides (Schmutterer, 2002). Alguns estudos vêm indicando que os compostos do Nim nem sempre apresentam uma ação seletiva, podendo afetar a entomofauna benéfica (Schmutterer, 1997). Avaliações precisas sobre os efeitos do Nim em parasitóides e predadores são fundamentais antes de sua inserção em programas de

MIP, uma vez que este deve atuar de forma compatível ou sinérgica com os inimigos naturais.

O parasitóide *Gryon gallardoi* Brèthes pertencente à família Scelionidae, uma família de himenópteros com 94 gêneros de distribuição mundial. Seus integrantes são solitários e atacam os ovos de uma grande variedade de insetos e alguns aracnídeos. Os programas de controle biológico onde houve o emprego dos Scelionidae foram bem sucedidos, embora o uso seja ainda restrito (Orr, 1988). Todavia, De Souza & Amaral Filho (1999) observaram 64,1% de parasitismo por *Gryon* sp. em 24 posturas de *L. zonatus*, coletadas em lavouras de milho em Campinas e Santa Maria da Serra (SP), evidenciando a alta capacidade de parasitismo deste microhimenóptero. Jones (1993) também destacou o intenso ataque de *Gryon* sp. a ovos de *L. zonatus* no estado do Arizona (EUA).

Tendo-se em vista os poucos estudos dos efeitos de derivados de Nim sobre os inimigos naturais e o potencial da utilização de extratos derivados desta planta para o controle de pragas no milho, esse trabalho tem como objetivo estudar possíveis efeitos deste produto sobre a longevidade, comportamento de parasitismo, tempo de desenvolvimento dos imaturos e razão sexual de *G. gallardoi*.

## MATERIAL E MÉTODOS

Para os bioensaios com o parasitóide foi utilizada uma formulação comercial de óleo de semente de Nim emulsionado (NIM-I-GO®). As concentrações utilizadas neste estudo (0,1; 0,5; 1,0 e 5,0%) foram obtidas a partir da diluição do produto em água destilada ou em solução açucarada a 10%, dependendo do bioensaio proposto.

Tanto *G. gallardoi* como o seu hospedeiro *L. zonatus*, foram mantidos no Laboratório de Entomologia Aplicada do Departamento de Zoologia, UNICAMP, em condições de  $25 \pm 2$  °C,  $70 \pm 10\%$  UR e fotofase de 12 horas. Exemplares do parasitóide e do hemiptero foram obtidos em coletas de oviposições e adultos, respectivamente, em campos de milho no Instituto Agrônomo de Campinas e no Instituto Biológico de São Paulo (Seção de Controle Biológico das Pragas). A criação do parasitóide foi efetuada através da manutenção em ovos de *L. zonatus*, sendo que os adultos do parasitóide permaneceram acondicionados em frascos plásticos (12 cm altura x 9 cm de diâmetro), com uma dieta de solução açucarada a 10%. Da mesma forma, adultos de *L. zonatus* foram mantidos em frascos plásticos (15 cm de altura x 12 cm de diâmetro), revestidos internamente por papel filtro, no qual o coreídeo ovipositava, sendo oferecidas como dieta espigas quase maduras de milho e solução açucarada a 10%.

Inicialmente foi realizado um bioensaio para avaliar se as diferentes concentrações do extrato possuem a capacidade de alterar os mecanismos de seleção do hospedeiro pelo parasitóide, repelindo as fêmeas ou interferindo no reconhecimento e na aceitação do hospedeiro para a oviposição. A taxa de emergência do parasitóide foi utilizada como parâmetro indicador de possíveis alterações nestes mecanismos. Também se analisou a influência do produto nas fases imaturas do parasitóide no interior do ovo hospedeiro tratado, através da avaliação do período de desenvolvimento e da razão sexual. Assim, fêmeas de *G. gallardoi* (30 fêmeas/concentração) foram individualizadas em placas de Petri (1,5 cm altura x 3,5 cm de diâmetro). Para cada fêmea ofereceu-se uma postura com 15 ovos previamente tratada (via *spray*) com água destilada (testemunha) ou com uma das quatro concentrações de Nim (0,1; 0,5; 1,0, e 5,0%). A idade dos ovos utilizados no experimento variou entre 0 e 3 dias, enquanto que as fêmeas adultas do parasitóide tinham idades entre 24 e 48 horas, sem experiência prévia de oviposição. As posturas foram deixadas com as fêmeas durante 24 horas, em

seguida as fêmeas foram retiradas e suas posturas mantidas sob observação diária até a emergência dos parasitóides.

Um segundo bioensaio foi realizado visando a avaliar os efeitos do óleo à base de Nim sobre a longevidade dos adultos de *G. gallardoi*. Neste caso, tanto as fêmeas como os machos do parasitóide (não acasalados) (30 indivíduos de cada sexo/concentração) foram individualizados em placas de Petri (1,5 cm altura x 3,5 cm de diâmetro) e submetidos a diferentes tratamentos: solução açucarada a 10% sem o Nim (testemunha) e solução açucarada a 10% com Nim, nas quatro concentrações mencionadas anteriormente (0,1; 0,5; 1,0, e 5,0%). As soluções foram embebidas em algodão e oferecidas aos adultos, sendo trocadas duas vezes por semana. Os indivíduos foram observados diariamente até a sua morte.

Todos os dados foram analisados estatisticamente através de programas computacionais como BioEstat v2.0 (Sociedade Civil Mamirauá, Brasil), Excel 2000 (Microsoft Inc., USA), e o StatsDirect v2.0 (StatsDirect Limited, Reino Unido). Foi usada como ferramenta para a apreciação dos dados a análise de variância, associada ao teste de Tukey, e o teste de qui-quadrado.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Em relação à influência do Nim sobre a emergência dos adultos não se observou diferença significativa entre a testemunha e os tratamentos, nos quais se utilizaram diferentes concentrações da formulação ( $F = 0,71$ ;  $P = 0,59$ ) (Tabela 1). Tal fato sugere ausência de alterações no parasitismo, assim como repelência das fêmeas por ovos tratados com este extrato vegetal. Estes resultados se assemelham aos obtidos tanto por Joshi *et al.* (1982), como por Chari *et al.* (1996), com *T. remus* e Raguramam & Singh (1998) com *B. hebetor*, nos quais as concentrações de extratos de semente de Nim utilizadas pelos autores não interferiram no comportamento de parasitismo das fêmeas.

Ainda, para a geração obtida através do parasitismo das fêmeas em ovos tratados com o Nim, tanto a razão sexual ( $X^2 = 1,98$ ;  $\alpha = 5\%$ ;  $GL = 3$ ) como o período de ovo-adulto não sofreram influências (Tabela 1). Além disso, o comportamento dos machos de emergirem um pouco antes das fêmeas também não foi alterado.

Os dados obtidos por Raguramam & Singh (1999) com *T. chilonis* corroboram os obtidos neste trabalho, pois evidenciaram que extratos de Nim não afetaram o desenvolvimento dos parasitóides no interior do ovo hospedeiro. Provavelmente, o cório do ovo hospedeiro possui a capacidade de fornecer uma proteção apropriada contra efeitos deletérios, evitando a penetração do extrato de Nim.

No que diz respeito ao efeito da formulação do óleo de Nim sobre a longevidade dos adultos *G. gallardoi*, constatou-se uma redução significativa entre os machos submetidos a tratamento com as diferentes concentrações de Nim, quando comparados aos do grupo testemunha ( $F = 100,42$  e  $P < 0,01$ ). Já nas fêmeas deste parasitóide apenas a concentração de 0.1% de Nim não diminuiu a longevidade ( $F = 15,43$  e  $P < 0,01$ ) (Tabela 2). É provável que tal fato seja relacionado a efeitos antialimentares decorrentes da ação do extrato vegetal. Tanto efeitos antialimentares primários, como a deterrência, quanto secundários, podem alterar a capacidade alimentar do inseto e conseqüentemente influir negativamente sobre a longevidade.

Estes dados se aproximam aos obtidos por Raguramam & Singh (1998) com *B. hebetor*, no qual em todas as concentrações de Nim avaliadas se observou efeito antialimentar, excetuando o caso com as fêmeas na concentração a 0,1%. Entretanto, os mesmos autores (1999), estudando o efeito do Nim sobre *T. chilonis*, nas mesmas

concentrações do trabalho já citado, observaram que este produto não causou efeito antialimentar em nenhum dos sexos do parasitóide, nas concentrações de 0,3 e 0,6%.

Tendo-se em vista os dados obtidos neste trabalho, conclui-se que esta formulação de Nim não afetou o comportamento de parasitismo e nem o desenvolvimento deste parasitóide no interior do ovo hospedeiro apesar de ter causado efeito na longevidade em decorrência de prováveis processos antialimentares. Verifica-se, portanto, que *G. gallardoi* é parcialmente tolerante ao produto comercial à base de Nim, nas condições laboratoriais utilizadas neste trabalho. Não obstante, outros estudos devem ser realizados para avaliar a aplicabilidade deste método em condições de campo.

## AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Serviço de Apoio ao Estudante da Unicamp pelo auxílio oferecido concedendo uma bolsa de Iniciação Científica; ao Instituto Agrônomo de Campinas e o Instituto Biológico de São Paulo (Seção de Controle Biológico das Pragas) por terem possibilitado a coleta de espécimes em suas instalações, tanto do parasitóide como de seu hospedeiro fitófago e a Tracy Perkins pelas correções do abstract.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CHARI, M.S., U.; SREEDHAR, R.S.N.; RAO & S.A.N. REDDY, 1996. Studies on Compatibility of Botanical and Microbial Insecticides to the Natural Enemies of *Spodoptera litura* F. **Tobacco Research**, **22**:32-35.
- DE SOUZA, C.E.P. & B.F. AMARAL FILHO, 1999. Ocorrência Natural de Parasitóides de *Leptoglossus zonatus* (Dallas) (Heteroptera: Coreidae). **An. Soc. Entomol. Brasil**, **28**:757-759.
- JONES, W.A., 1993. New Host and Habitat Associations for Some Arizona Pentatomoidea and Coreidae. **Southwest. Entomol.**, **16**:1-29.
- JOSHI, B.G.; G. RAMAPRASAD & S. SITARAMAIAH, 1982. Effect of a Neem Kernel Suspension on *Telenomus remus*, an Egg Parasite of *Spodoptera litura*. **Phytoparasitica**, **10**:61-63.
- MAREDA, K.M.; O.L. SEGURA & J.A. MIHM, 1992. Effects of Neem, *Azadirachta indica*, on Six Species of Maize Insect Pests. **Trop. Pest Manage.**, **38**:190-195.
- MARTINEZ, S.S., 2002. **O Nim (*Azadirachta indica*): Natureza, Usos Múltiplos, Produção**. Londrina, IAPAR, 142p.
- ORR, D.B., 1988. Scelionidae Wasps as Biological Control Agents: A Review. **Fla. Entomol.**, **71**:506-528.
- RAGURAMAM, S. & R.P. SINGH, 1998. Behavioral and Physiological Effects of Neem (*Azadirachta indica*) Seed Kernel Extracts on Larval Parasitoid, *Bracon hebetor*. **J. Chem. Ecology**, **24**:1241-1250.

- RAGURAMAM, S. & R.P. SINGH, 1999. Biological Effects of Neem (*Azadirachta indica*) Seed Oil on an Egg Parasitoid, *Trichogramma chilonis*. **Ecotoxicology**, **92**:1274-1280.
- SAWASAKI, E.; C.J. ROSSETO; G.M. FANTINI & A. PETINELLI JUNIOR, 1989. *Leptoglossus zonatus* (Dallas, 1952) (Hemiptera: Coreidae) Nova Praga do Milho. **Arq. Inst. Biol.**, **56**:22.
- SCHMUTTERER, H., 1997. Side-Effects of Neem (*Azadirachta indica*) Products on Insect Pathogens and Natural Enemies of Spider Mites and Insects. **J. Appl. Ent.**, **121**:121-128.
- SCHMUTTERER, H., 2002. **The Neem Tree *Azadirachta indica* A. Juss. and Other Meliaceous Plants**. Mumbai, Neem Foundation, 893p.

Tabela 1. Taxa de emergência, razão sexual e tempo de desenvolvimento das fases imaturas de *G. gallardoi* em ovos de *L. zonatus* tratados com de óleo à base de semente de Nim, em diferentes concentrações ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase 12 horas).

Tratamentos	Emergência do parasitóide (%) <sup>1</sup>	Razão Sexual (♀ / ♂ + ♀) <sup>2</sup>	Tempo (ovo-adulto) (dias)	
			Machos	Fêmeas
Testemunha	78,9 a	0,86 a	20,0 ± 0,06 (N = 48)	20,1 ± 0,02 (N = 307)
0,1 % de Nim	68,0 a	0,84 a	20,0 ± 0,06 (N = 47)	20,4 ± 0,03 (N = 259)
0,5 % de Nim	73,5 a	0,88 a	20,0 ± 0,07 (N = 40)	20,1 ± 0,02 (N = 291)
1,0 % de Nim	73,1 a	0,85 a	20,2 ± 0,05 (N = 48)	20,6 ± 0,03 (N = 281)
5,0 % de Nim	68,9 a	0,86 a	19,7 ± 0,08 (N = 44)	20,0 ± 0,03 (N = 266)

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

<sup>2</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste do qui-quadrado a 5 % de probabilidade.

Tabela 2. Longevidade dos adultos *G. gallardoi* alimentados com solução açucarada contendo de óleo à base de semente Nim, em diferentes concentrações ( $25 \pm 2$  °C;  $70 \pm 10\%$  UR; fotofase 12 horas).

Tratamentos	Longevidade dos Adultos (não acasalados) (dias)	
	Machos <sup>1</sup>	Fêmeas <sup>1</sup>
Testemunha	$31,6 \pm 2,45$ a (N = 30)	$19,4 \pm 3,7$ a (N = 30)
0,1 % de Nim	$6,1 \pm 1,02$ b (N = 30)	$13,7 \pm 2,25$ a (N = 30)
0,5 % de Nim	$4,6 \pm 0,49$ b (N = 30)	$3,4 \pm 0,53$ b (N = 30)
1,0 % de Nim	$3,6 \pm 0,18$ b (N = 30)	$3,1 \pm 0,29$ b (N = 30)
5,0 % de Nim	$3,6 \pm 0,16$ b (N = 30)	$2,6 \pm 0,1$ b (N = 30)

<sup>1</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.