

USO DE *Azadirachta indica* A. JUSS E *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* NO MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
NA CULTURA DO MILHO

por

MARCILEYNE PESSÔA LEITE DE LIMA

(Sob Orientação do Professor José Vargas de Oliveira)

RESUMO

A utilização de inseticidas sintéticos tem sido o principal método de controle de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), mas o uso inadequado tem contribuindo para o aumento do custo de produção, redução de inimigos naturais, seleção de populações resistentes, entre outros problemas. Desta forma, buscando alternativas de controle mais ecológicas, estudou-se no presente trabalho os efeitos de nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta) sobre *S. frugiperda* em experimentos de laboratório, casa de vegetação e campo. Foram testadas em campo formulações comerciais de inseticidas botânicos Natuneem[®] (10 mL/L em 2005 e 15 mL/L em 2006) e Neemseto[®] (5 e 10 mL/L em 2005, e 10 e 15 mL/L em 2006) e do inseticida biológico Bta (Xentari[®] 10 g/L em 2005 e 2006), aplicados aos 15, 30 e 45 e aos 15, 25 e 35 dias após a emergência das plantas em 2005 e 2006, respectivamente. Antes de cada pulverização foram atribuídas notas de 0 a 5 para as injúrias foliares. Em 2005, somente Neemseto[®] 10 mL/L foi eficiente aos 30 dias. Em 2006, Neemseto[®] 15 mL/L e Bta 10 g/L, com notas médias de 0,93 e 0,98, diferiram da testemunha, com nota 2,38, na avaliação realizada aos 35 dias. Plantas de milho, com cerca de 40 dias de idade, foram pulverizadas em casa de vegetação com os inseticidas Natuneem[®], Neemseto e Bta, e posteriormente infestadas,

artificialmente, com lagartas de *S. frugiperda* recém-eclodidas. Após 10 dias verificou-se que os tratamentos foram igualmente eficientes, diferindo da testemunha, tanto em relação às notas, quando ao número de lagartas sobreviventes. Nos últimos bioensaios lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade foram alimentadas com folhas de milho submersas na calda inseticida nas concentrações 2,5; 5,0; 7,5; 10 mL ou g/L e testemunha (água). Os efeitos dos inseticidas dependeram da concentração utilizada, pois provocaram mortalidade crescente das lagartas, alongaram o período e reduziram o peso larval. Em alguns casos, também, reduziram o peso e a viabilidade pupal e a longevidade de adultos. Lagartas com 0-24 h de idade foram mais susceptíveis aos inseticidas, em relação às com 10 dias de idade.

PALAVRAS-CHAVE: Meliaceae, lagarta-do-cartucho, inseticidas botânicos, inseticida biológico, bioatividade, escala de notas

USE OF *Azadirachta indica* A. JUSS AND *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* TO *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) CONTROL,
IN CORN CROP

by

MARCILEYNE PESSÔA LEITE DE LIMA

(Under the Direction of Professor José Vargas de Oliveira)

ABSTRACT

The synthetic insecticide is the main method used to control *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith). However, the inadequate application of the insecticide has contributed to increase costs, reduction of the natural enemies, and selection of resistant populations, among other problems. Attempting to obtain alternative control of *S. frugiperda* more ecologically acceptable, the present work investigated the effects of neem (*Azadirachta indica* A. Juss) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta) on *S. frugiperda* under laboratory, greenhouse and field conditions. In the field, the commercial formulations of Natuneem[®] (10 mL/L in 2005 and 15 mL/L in 2006) and Neemseto[®] (5 and 10 mL/L in 2005, and 10 and 15 mL/L in 2006) and the biological insecticide Xentari[®] (10 g/L in 2005 and 2006) were applied at 15, 30 and 45 and at 15, 25 e 35 days after plant emergency in 2005 and 2006, respectively. Thee evaluations consisted of using a scale of foliar injury from 0 to 5 prior each spray. In 2005, only Neemseto[®] 10 mL/L was efficient at 30 days. In 2006, Neemseto[®] 15 mL/L and Xentari[®] with average score of 0.93 and 0.98, respectively, were different from the control, which produced a score of 2.38 at 35 days after plant emergency. The greenhouse assay consisted of treatment of plants 40-days old with the insecticides Natuneem[®], Neemseto[®] and Xentari[®] followed by artificial infestation with newly-

hatched larvae of *S. frugiperda*. After 10 days, it was verified that the treatment were equally efficient, differing from the control, regarding to the injury score, as well as, the number of surviving larvae. In the last bioassays, in the laboratory, 10-days old *S. frugiperda* larvae were fed with corn leaves treated with the insecticides Natuneem[®], Neemseto[®] and Xentari[®] at 2.5; 5.0; 7.5; 10 mL or g/mL and control (water). The effect of the insecticides increased as function of increasing concentration, causing higher larval mortality, longer period and lower larval weight. In some cases, reduction of pupa weight and viability and longevity of adults were also verified. Larvae 0-24 h old were more susceptible to the insecticides, as compared with 10-days old larvae.

KEY WORDS: Meliaceae, fall armyworm, botanical insecticide, biological insecticide, bioactivity, scale of note

USO DE *Azadirachta indica* A. Juss E *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* NO MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
NA CULTURA DO MILHO

por

MARCILEYNE PESSÔA LEITE DE LIMA

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, da Universidade
Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos para obtenção do grau de
Doutor em Entomologia Agrícola.

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

USO DE *Azadirachta indica* A. Juss E *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* NO MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
NA CULTURA DO MILHO

por

MARCILEYNE PESSÔA LEITE DE LIMA

Comitê de Orientação:

José Vargas de Oliveira - UFRPE

Edmilson Jacinto Marques - UFRPE

Jorge Braz Torres - UFRPE

RECIFE - PE

Fevereiro – 2008

USO DE *Azadirachta indica* A. Juss E *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* NO MANEJO DE
Spodoptera frugiperda (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE),
NA CULTURA DO MILHO

por

MARCILEYNE PESSÔA LEITE DE LIMA

Orientador: _____
José Vargas de Oliveira – UFRPE

Examinadores: _____
Edmilson Jacinto Marques – UFRPE

Jorge Braz Torres – UFRPE

Valéria Wanderley Teixeira – UFRPE

Álvaro Aguiar Coelho Teixeira – UFRPE

Elizabeth Araújo de Albuquerque Maranhão – IPA

À Deus,

Por ter caminhado sempre ao meu lado,

E por me ter carregado em seus braços,

Nos momentos em que não tive forças

Para caminhar sozinha.

AGRADEÇO

Aos meus pais,

José Pedro e Rita Maria,

Exemplos de vida, caráter e força,

E aos meus irmãos Marcila Maria, Rita de

Cássia e José Marcelo que dão sentido

A palavra Família

OFEREÇO

Aos meus filhos

Larissa e José Pedro Neto,

Que embora indefesos,

São o meu porto seguro

DEDICO

Que nada me assuste, nada me perturbe.

Tudo passa, só Deus, porém, não muda.

A quem tem Deus nada falta.

Com paciência tudo se alcança

Só Deus me basta.

Santa Tereza D'Ávila

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal Rural de Pernambuco, que durante muitos anos foi a minha segunda casa, dando-me a oportunidade de crescer profissionalmente;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pelo suporte financeiro que viabilizou a realização deste trabalho;

À Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária (IPA) pelo apoio institucional;

Aos meus colegas da Gerência Regional de Afogados da Ingazeira, particularmente a David, pelos ensinamentos e bons momentos vividos;

À minha família, pelo estímulo e apoio na busca da realização deste grande sonho, além do reforço financeiro;

Ao meu cunhado Adiraldo e toda a sua família, pelo carinho e consideração incondicionais, que, talvez sem entenderem a nobreza dos seus gestos, me deram o suporte necessário para que eu conseguisse terminar mais essa etapa;

À Laudjânio, pelo apoio nos primeiros passos, um verdadeiro “empurrão” nesta direção;

Aos meus amigos de Tuparetama, por terem sempre me incentivado e lembrado da minha responsabilidade como “primeira filha Doutora” da nossa querida cidade;

Ao meu orientador, Professor José Vargas de Oliveira, pela dedicação, compreensão, amizade e exemplo de conduta profissional;

Ao meu co-orientador, Professor Jorge Braz Torres, pelas sugestões e disponibilidade;

Aos demais Professores do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola da UFRPE, pelos conhecimentos transmitidos;

Aos meus colegas do Programa de Pós-Graduação em Entomologia Agrícola, pelo respeito e convívio harmonioso; em particular a Ricardo e Marco Aurélio, pelo carinho, companheirismo e amizade, e para lembrar que as aparências enganam mesmo;

À minha “família” do Laboratório de Entomologia Agrícola, em especial a Alicely (“Aly”), Alberto (“Albert”), Pollyana (“Polly”), Solange (“Sol”), Nívea, Adriana, Lígia (“Pequeninha”), Rodrigo Flores, Rodrigo Coitinho e agora Mariana, pela amizade, consideração e ajuda em todos os momentos;

Aos colegas da Fitopatologia, Rinaldo, Erick e Wagner, pela disponibilidade e auxílio “estatístico”;

Ao meu filho de coração Felipe Ernesto, pela solidez de caráter, paciência (nem tanta), estima e pela companhia em tantas noites insones;

Aos funcionários da Área de Fitossanidade, em especial a Genira, Darci (“me aperreia ...”) e Sr. Luiz, pelos auxílios prestados;

Enfim, àqueles, conhecidos ou anônimos, que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, o meu mais sincero agradecimento.

SUMÁRIO

	Páginas
AGRADECIMENTOS	x
CAPÍTULOS	
1 INTRODUÇÃO	01
LITERATURA CITADA.....	05
2 MANEJO DE <i>Spodoptera frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) COM FORMULAÇÕES DE NIM E <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> EM CAMPO E CASA-DE-VEGETAÇÃO	09
RESUMO	10
ABSTRACT	11
INTRODUÇÃO	12
MATERIAL E MÉTODOS	14
RESULTADOS E DISCUSSÃO	16
AGRADECIMENTOS.....	19
LITERATURA CITADA.....	19
3 SUSCEPTIBILIDADE DE DOIS ESTÁDIOS LARVAIS DE <i>Spodoptera</i> <i>frugiperda</i> (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO NIM (<i>Azadirachta indica</i> A. JUSS) E A <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i>	27
RESUMO	28
ABSTRACT	29
INTRODUÇÃO	30

MATERIAL E MÉTODOS	31
RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
AGRADECIMENTOS.....	38
LITERATURA CITADA.....	39

CAPÍTULO 1

INTRODUÇÃO

A cultura do milho é de grande importância econômica e social como fonte de alimento para o homem e animais, bem como na produção de matéria-prima industrial. A produção de grãos para a safra 2007/2008 foi estimada em 126.000 t em Pernambuco, 4.199.200 t no Nordeste e 53.369.040 t no Brasil (CONAB 2008).

Dentre os fatores que podem comprometer o rendimento e a qualidade dos grãos destacam-se as pragas, que podem ocasionar prejuízos de grande impacto econômico. E entre estas, a lagarta-do-cartucho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), é uma das mais importantes nas Américas do Sul e Central e México. As lagartas nos estádios iniciais de desenvolvimento consomem parte das folhas mantendo a superfície intacta (“raspagem”); as maiores perfuram as folhas e desenvolvem-se no cartucho, podendo também danificar a espiga (Gassen 1996).

As perdas causadas por *S. frugiperda* no rendimento de grãos de milho no Brasil foram estimadas entre 34 e 40%, dependendo do índice de infestação e do estágio fenológico da cultura (Cruz *et al.* 1999). Cruz & Turpin (1982), estudando o efeito de injúrias em diferentes estádios de crescimento do milho, observaram que o estágio mais suscetível foi o de 8 a 10 folhas, ocasionando redução no rendimento de 18,7%, devido, principalmente, ao decréscimo no número de grãos. No milho “safrinha”, em período de seca, a lagarta ocorre desde a germinação até a fase de maturação, causando além das injúrias nas folhas, o broqueamento e corte de plantas rente ao solo, semelhantes às lagartas elasma, *Elasmopalpus lignosellus* (Zeller), e rosca, *Agrotis ipsilon* (Hufnagel), respectivamente (Gassen 1996, Diez-Rodríguez & Omoto 2001). No Brasil, foram

estimados prejuízos da ordem de 40 milhões de dólares por ano, em decorrência das perdas causadas por *S. frugiperda* (Cruz *et al.* 1999).

Giolo *et al.* (2002), estudando a biologia de populações de *S. frugiperda* coletadas na cultura do milho em Santa Rosa e Pelotas, RS e mantidas em laboratório a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$, UR $70\pm 15\%$ e fotofase de 14 h, em dieta artificial, obtiveram período de desenvolvimento embrionário de dois dias; duração da fase larval de 16,45 e 14,10 dias; duração da fase pupal de 10,65 e 12,72 e ciclo total de 31,94 e 31,56 dias, respectivamente. Busato *et al.* (2004) estudaram o consumo e utilização de alimento por lagartas de *S. frugiperda* em dieta artificial à $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ e $28\pm 1^{\circ}\text{C}$, umidade relativa de $70\pm 15\%$ e fotofase 14 h. Na temperatura de $28\pm 1^{\circ}\text{C}$, as lagartas apresentaram uma maior eficiência de conversão do alimento ingerido e digerido e custo metabólico, consumiram uma menor quantidade de alimento e reduziram a duração da fase larval.

O controle de *S. frugiperda* é feito, praticamente, com inseticidas químicos sintéticos, que na maioria das vezes são utilizados sem levar em conta os princípios do manejo integrado de pragas. Como conseqüências há redução de inimigos naturais, seleção de populações resistentes, aumento dos custos de produção e problemas de contaminação ambiental (Cruz *et al.* 1999, Diez-Rodríguez & Omoto 2001). Desta forma, o uso de táticas de controle que causem menor impacto ambiental são de primordial importância, o que tem motivado à retomada de estudos com plantas inseticidas, como uma alternativa aos inseticidas sintéticos (Roel 2001, Bogorni & Vendramim 2005).

Pesquisas nesta área evoluíram muito nas últimas décadas, sendo as plantas da família Meliaceae, em particular, a espécie *Azadirachta indica* A. Juss, popularmente denominada nim no Brasil, uma das mais estudadas quanto às suas propriedades e potencial inseticida. Os produtos à base de nim têm-se revelado tão potentes quanto alguns inseticidas sintéticos (Koul *et al.* 1990, Schmutterer 1990, Mordue (Luntz) & Nisbet 2000, Roel *et al.* 2000, Martinez 2002, Prates *et al.*

2003). Outras meliáceas, também, têm apresentado resultados promissores como fonte de inseticidas botânicos, como *Melia azedarach* L. e algumas espécies do gênero *Trichilia* (Roel & Vendramin 1999, Roel *et al.* 2000, Torrecillas & Vendramin 2001, Bogorni & Vendramin 2003).

Tanto o óleo emulsionável, como os extratos ou o pó de sementes, folhas e ramos de *A. indica* têm sido avaliados no controle de várias espécies-praga, inclusive *S. frugiperda* (Rodríguez & Vendramim 1998, Reed & Majumdar 1998, Prates *et al.* 2003, Bogorni & Vendramim 2005, Gabriel *et al.* 2006). O interesse pelo uso do nim deve-se à presença de um limonóide denominado azadiractina nas folhas e sementes, cuja atividade sobre alguns insetos é comparável à dos melhores inseticidas sintéticos encontrados no mercado (Prates *et al.* 2003). Azadiractina tem efeito repelente, tóxico, regulador de crescimento e da metamorfose dos insetos, afetando a oviposição, viabilidade de ovos e causando deterrência alimentar (Schmutterer 1988, Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Martinez & van Emden 2001, Roel 2001, Viana & Prates 2003). Mordue (Luntz) *et al.* (1998) demonstraram que a deterrência alimentar, associada as alterações no desenvolvimento e na ecdise, foram as principais causas da mortalidade em insetos polípagos como *Spodoptera littoralis* (Boisduval), *S. frugiperda* e *Schistocerca gregaria* (Forsk).

Produtos formulados com nim, entretanto, têm apresentado diferentes resultados no controle de pragas, talvez em decorrência do método de extração, metodologia utilizada, ou da dificuldade da quantificação dos compostos bioativos presentes, a exemplo da azadiractina. Embora as folhas tenham menor quantidade de ingredientes ativos, a vantagem de sua utilização em relação ao uso de sementes é a facilidade de obtenção para o preparo dos extratos, tendo em vista que a produção de sementes em algumas regiões do Brasil é, muitas vezes, reduzida e o processamento para obtenção do óleo na propriedade necessita de equipamentos, dificultando seu uso pelo agricultor (Viana & Prates 2003). Existem no mercado várias formulações comerciais de nim, entre elas a

Nim-I-Go[®], Ecozin[®], Agroneem[®] e Neemix[®], já sendo utilizadas no controle de pragas agrícolas (Greenberg *et al.* 2005).

Uma alternativa para o controle de *S. frugiperda* é a utilização de inseticidas biológicos. Formulações contendo a bactéria *Bacillus thuringiensis* (Bt) são produzidas comercialmente desde 1950 e representam, atualmente, mais de 90% do mercado de bioinseticidas. Essa bactéria aeróbica sintetiza inclusões cristalinas durante a esporulação, as quais são compostas por um ou mais polipeptídios, conhecidos como delta-endotoxinas, ou proteínas Cry, que se acumulam na célula bacteriana. No final da esporulação, o cristal corresponde cerca de 20 a 30% do peso seco da célula, sendo liberado juntamente com o esporo no momento da lise celular (Herrnstadt *et al.* 1986, Aronson 1995). É patogênica para mais de 130 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera, sendo de baixa toxicidade para artrópodos não-alvo, pássaros e mamíferos (Siegel 2001). Formulações comerciais à base de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk) e *aizawai* (Bta) são as mais utilizadas no controle de lagartas.

Lagartas de *S. frugiperda* apresentam baixa susceptibilidade ao Btk, isolado HD-1, princípio ativo da formulação comercial Dipel[®], que é muito utilizada no controle de diversas pragas. Assim, novos isolados mais patogênicos têm sido testados, a exemplo de S701, S764, S1265, obtidos do Banco de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia que apresentam diferentes proteínas Cry (Silva *et al.* 2004) e o isolado S1905, em comparação aos isolados SO550, SO845 e BTK 285 (Monnerat *et al.* 2007). O isolado HU4-2 de Bta foi tão patogênico para *S. frugiperda* em laboratório quanto Xentari[®], produto comercializado no mercado brasileiro (Martínez *et al.* 2004), que tem se mostrado efetivo no controle desta praga.

Considerando-se a importância de utilização de táticas de controle de pragas mais seguras para o meio ambiente, como uma alternativa aos inseticidas sintéticos, o presente trabalho objetivou avaliar os efeitos de inseticidas formulados à base de nim (Natuneem[®] e Neemseto[®]) e

de Bta (Xentari[®]), em diferentes concentrações, no manejo de lagartas de *S. frugiperda* em laboratório, casa-de-vegetação e campo.

Literatura Citada

Aronson, A. 1995. The protoxin composition of *Bacillus thuringiensis* insecticidal inclusions affects solubility toxicity. Appl. Environ. Microbiol. 61: 4057-4060.

Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2003. Bioatividade de Extratos Aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em Milho. Neotrop. Entomol. 32: 665-669.

Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005. Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 34: 311-317.

Busato, G.R., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia, F.P. Giolo & S.D. Nörnberg. 2004. Consumo e utilização de alimento por *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae) em duas temperaturas. Cienc. Agrotecnol. 28: 1278-1283.

CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2008. Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf>. Acesso: 01/fev./2008.

Cruz, I. & F.T. Turpin. 1982. Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. Pesqu. Agropecu. Bras. 17: 355-360.

Cruz, I., M.L.C. Figueiredo & M.J. Matoso. 1999. Controle biológico de *Spodoptera frugiperda* utilizando o parasitóide de ovos *Trichogramma*. Sete Lagoas, EMBRAPA-CNPMS, 40p. (Circular Técnica, 30)

- Diez-Rodríguez, G.J. & C. Omoto. 2001.** Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. Neotrop. Entomol. 30: 311-316.
- Gabriel, P., M.A.G.C. Tavares & J.D. Vendramim. 2006.** Avaliação de bioatividade de extratos de *Trichilia pallida* e *T. pallens* sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Agric. 81: 10-23.
- Gassen, D. 1996.** Manejo de pragas associadas à cultura do milho. Passo Fundo, Aldeia Norte, 127p.
- Giolo, F.P., A.D. Grützmacher, M.S. Garcia & G.R. Busato. 2002.** Parâmetros biológicos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lep.: Noctuidae) oriundas de diferentes localidades e hospedeiros. Rev. Bras. Agrocienc. 8: 219-224.
- Greenberg, S.M., A.T. Showler & T.X. Liu. 2005.** Effects of neem-based insecticides on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Science 12: 17-23.
- Herrnstadt, C., G.C. Soares, E.R. Wilcox & D.L.A. Edwards. 1986.** New strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. Biotechnology 4: 305-308.
- Koul, O., M.B. Isman & C.M. Ketkar. 1990.** Properties and uses of neem, *Azadirachta indica*. Can. J. Bot. 68: 1-11.
- Martínez, C., M. Porcar, A. López, I.R. Scudero, F.T. Pérez-Llarem & P. Caballero. 2004.** Characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain with a broad spectrum of activity against lepidopteran insects. Entomol. Exp. Appl. 111: 71-74.
- Martinez, S.S. & H.F. Van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. Neotrop. Entomol. 30: 113-125.
- Martinez, S.S. 2002.** (ed.). O nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 142p.

- Monnerat, R.G., A.C. Batista, P.T. Medeiros, E.S. Martins, V.M. Melatti, L.B. Praça, V.F. Dumas, C. Morinaga, C. Demo, A.C.M. Gomes, R. Falcão, C.B. Siqueira, J.O. Silva-Werneck & C. Berry. 2007.** Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatilis*. *Biol. Control* 41: 291-295.
- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.
- Mordue (Luntz), A.J. & A.J. Nisbet. 2000.** Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. *An. Soc. Entomol. Bras* 29: 615-632.
- Mordue (Luntz), A.J., M.S.J. Simmonds, S.V. Ley, W.M. Blaney, W. Mordue, M. Nasiruddin & A.J. Nisbet. 1998.** Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pestic. Sci.* 54: 277-284.
- Prates, H.T., P.A. Viana & J.M. Waquil. 2003.** Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 38: 437-439.
- Reed, E. & S.K. Majumdar. 1998.** Differential cytotoxic effects of azadirachtin on *Spodoptera frugiperda* and mouse cultured cells. *Entomol. Exp. Appl.* 89: 215-221.
- Rodríguez H., C. & J.D. Vendramim. 1998.** Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Man. Int. Plagas* 48: 11-18.
- Roel, A.R. 2001.** Utilização de plantas com propriedades inseticidas: uma contribuição para o desenvolvimento rural sustentável. *Rev. Int. Des. Local* 1: 43-50.
- Roel, A.R., J.D. Vendramin, R.T.S. Frighetto & N. Frighetto. 2000.** Efeito de extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) no desenvolvimento e sobrevivência da lagarta-do-cartucho. *Bragantia* 59: 53-58.

- Roel, A.R.; Vendramin, J.D. 1999.** Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). *Sci. Agric.* 56: 581-586.
- Schmutterer, H. 1988.** Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.* 34: 713-719.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Siegel, J.P. 2001.** The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J. Invertebr. Pathol.* 77: 13-21.
- Silva, S.M.B., J.O. Silva-Werneck, R. Falcão, A.C. Gomes, R.R. Fragoso, M.T. Quezado, O.B.O. Neto, J.B. Aguiar, M.F.G. de Sá, A. Bravo & R.G. Monnerat. 2004.** Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. *J. Appl. Entomol.* 128: 102-107.
- Torrecillas, S.M. & J.D. Vendramin. 2001.** Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci. Agric.* 58: 27-31.
- Viana, P.A. & H.T. Prates. 2003.** Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. *Bragantia* 62: 69-74.

CAPÍTULO 2

MANEJO DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) EM MILHO COM FORMULAÇÕES DE NIM E *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, EM CAMPO E CASA-DE-VEGETAÇÃO¹

MARCILEYNE P. L. LIMA, JOSÉ V. OLIVEIRA E EDMILSON J. MARQUES²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco. Av.

Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife-PE.

¹Lima, M.P.L., J.V. Oliveira & E.J. Marques. Manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) com formulações de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* em campo e casa-de-vegetação. Ciência Rural.

RESUMO - A lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, principal praga do milho no Brasil, é comumente controlada com inseticidas sintéticos. Assim, na busca de alternativas eficientes e de baixo impacto ambiental, testou-se em campo as formulações comerciais de inseticidas botânicos Natuneem[®] (10 mL/L em 2005 e 15 mL/L em 2006) e Neemseto[®] (5 e 10 mL/L em 2005, e 10 e 15 mL/L em 2006) e do inseticida biológico Bta (Xentari[®] 10 g/L em 2005 e 2006), aplicados aos 15, 30 e 45 e aos 15, 25 e 35 dias após a emergência das plantas em 2005 e 2006, respectivamente. Antes de cada pulverização foram atribuídas notas de 0 a 5 para as injúrias foliares. Em 2005, somente Neemseto[®] 10 mL/L foi eficiente aos 30 dias. Em 2006, Neemseto[®] 15 mL/L e Bta 10 g/L, com notas médias de 0,93 e 0,98, diferiram da testemunha, com nota 2,38, na avaliação realizada aos 35 dias. No experimento em casa-de-vegetação, plantas de milho, com cerca de 40 dias de idade, foram pulverizadas com os inseticidas Natuneem[®], Neemseto[®] e Xentari[®] e posteriormente infestadas, artificialmente, com lagartas de *S. frugiperda* recém-eclodidas. Após 10 dias verificou-se que os tratamentos foram igualmente eficientes, diferindo da testemunha, tanto em relação às notas, quando ao número de lagartas sobreviventes.

PALAVRAS-CHAVE: Meliaceae, lagarta-do-cartucho, inseticida botânico, bioinseticida, escala de notas

MANAGEMENT OF *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH) (LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) IN
CORN WITH COMMERCIAL NEEM AND *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*, IN THE
FIELD AND GREENHOUSE

ABSTRACT – The fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) is the main pest of corn in Brazil and the use of synthetic insecticides is the most commonly applied method to its control. In searching for efficient and low environment impact alternatives, commercial formulations of the botanical insecticide Natuneem[®] (10 mL/L in 2005 and 15 mL/L in 2006) and Neemseto[®] (5 and 10 mL/L in 2005, and 10 and 15 mL/L in 2006) and the biological insecticide Bta Xentari[®] (10 g/L in 2005 and 2006) applied at 15, 30 and 45 and at 15, 25 and 35 days after plant emergency in 2005 and 2006, respectively, were tested. Evaluations consisted of using a scale of foliar injury from 0 to 5 prior each spray. In 2005, only Neemseto[®] 10 mL/L was efficient at 30 days. In 2006, Neemseto[®] 15 mL/L and Bta Xentari[®] with average score of 0.93 and 0.98, respectively, were different from the control with score of 2.38 at 35 days after plant emergency. The greenhouse assay consisted of treatment of 40 days old corn plants with the insecticides Natuneem[®], Neemseto[®] and Xentari[®] followed by artificial infestation with newly-hatched larvae of *S. frugiperda*. After 10 days, it was verified that the treatment were equally efficient, differing from the control, regarding to the injury score, as well as, the number of surviving worms.

KEY WORDS: Meliaceae, fall armyworm, botanical insecticide, bioinsecticide, scale of injury

Introdução

A cultura do milho é de grande relevância na alimentação humana e animal e como matéria-prima na indústria de alimentos, participando ativamente do mercado econômico brasileiro. A produção de grãos para a safra 2007/2008 foi estimada em 126.000 t em Pernambuco, 4.199.200 t no Nordeste e 53.369.040 t no Brasil (CONAB 2008). Nas regiões de sequeiro do Nordeste, o milho assume caráter de cultura de subsistência e, portanto, a redução da produção afeta diretamente a disponibilidade de alimento para a população de baixa renda.

O potencial produtivo do milho pode ser afetado, principalmente, pela competição com plantas daninhas nos estágios iniciais de desenvolvimento e o ataque de pragas, sobretudo a lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae), que pode reduzir a produção de grãos em até 34% (Cruz 1995). As perdas dependem do grau de infestação e do estágio fenológico da cultura, pois segundo Cruz & Turpin (1982), quando as plantas foram infestadas no estágio de 8-10 folhas houve redução de 18,7% no rendimento. O aumento da área de plantio com o milho “safrinha” e a expansão de cultivos irrigados, têm sido mencionados como responsáveis pela o aumento da infestação de *S. frugiperda*, e por mudança de seu comportamento, pois tem sido comumente encontrada causando injúrias no colo das plantas (broqueamento ou corte) e nas espigas (Cruz 1995, Waquil 1997, Diez-Rodríguez & Omoto 2001).

Os inseticidas sintéticos são, praticamente, utilizados como tática preferencial no controle de *S. frugiperda* em milho no Brasil, sem levar em consideração os princípios do manejo ecológico de pragas, contribuindo para a elevação dos custos de produção e dos riscos ambientais decorrentes do uso inadequado desses produtos (Cruz 1995, Beserra & Parra 2004). Por outro lado, a diversidade de plantas com potencial inseticida tem motivado o desenvolvimento de pesquisas, visando o controle de *S. frugiperda*, bem como de diversas pragas agrícolas e urbanas. Dentre as plantas mais estudadas, destaca-se o nim indiano (*Azadirachta indica* A. Juss) (Meliaceae), que

contém o limonóide azadiractina, substância bem conhecida pelas suas propriedades inseticidas, provocando diversos efeitos nos insetos, como mortalidade, redução do crescimento, inibição do processo de alimentação, inibição da ecdise, anormalidades anatômicas, etc (Martinez & van Emden 2001, Martinez 2002). Os compostos bioativos de nim são utilizados na forma de pós, extratos aquosos e/ou orgânicos (metanólico, etanólico, acetônico, clorofórmico, hexânico), óleos e pasta, além de frações parcialmente purificadas e formulações ricas em azadiractina. Estudos sobre os efeitos do nim na biologia e comportamento de *S. frugiperda* têm sido avaliados por diversos autores (Reed & Majumdar 1998, Rodríguez & Vendramim 1998, Prates *et al.* 2003, Viana *et al.* 2007), bem como com outras meliáceas do gênero *Trichilia* (Roel & Vendramim 1999, Torrecillas & Vendramim 2001, Bogorni & Vendramim 2005, Gabriel *et al.* 2006), com resultados promissores.

Outra alternativa de controle de *S. frugiperda* é o uso inseticidas biológicos, à base da bactéria *Bacillus thuringiensis* Berliner (Bt), tendo em vista a sua patogenicidade para mais de 130 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera e sua baixa toxicidade para artrópodos não-alvo, pássaros e mamíferos (Siegel 2001). *B. thuringiensis* é uma bactéria aeróbica que sintetiza inclusões cristalinas durante a esporulação, as quais são compostas por um ou mais polipeptídios, conhecidos como delta endotoxinas, ou proteínas Cry, que se acumulam na célula bacteriana. No final da esporulação, o cristal corresponde cerca de 20 a 30% do peso seco da célula, sendo liberado juntamente com o esporo no momento da lise celular (Herrnstadt *et al.* 1986, Aronson 1995).

S. frugiperda apresenta baixa susceptibilidade ao *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk), isolado HD-1, que é o princípio ativo da formulação comercial. Dipel[®], muito eficiente no controle de diversas pragas, o que proporcionou à busca por outros isolados mais patogênicos. Os

isolados S701, S764, S1265 e HD-1, obtidos do Banco de Germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, que apresentam diferentes proteínas Cry, foram testados em lagartas do segundo instar de *S. frugiperda*, apresentando valores CL_{50} de $6,512 \times 10^{-7}$, $2,188 \times 10^{-6}$, $4,081 \times 10^{-5}$ e $1,701 \times 10^{-6}$, (expressos como diluição da cultura), respectivamente (Silva *et al.* 2004). O isolado S1905 foi mais patogênico, em comparação aos isolados SO550, SO845 e BTK 285 (Monnerat *et al.* 2007). Por outro lado, *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta), isolado HU4-2, foi igualmente patogênico a *S. frugiperda*, em comparação ao Xentari[®], produto comercializado no mercado brasileiro, comprovadamente eficiente no controle dessa praga (Martínez *et al.* 2004).

Em face das considerações apresentadas, os inseticidas à base de nim e Bta, devido a sua eficiência, baixa toxicidade para o homem e animais, e também para diversos inimigos naturais de pragas, são de grande importância para serem avaliados em programas de manejo integrado de *S. frugiperda* em cultivos de milho tradicional e orgânico. Visando obter informações mais precisas sobre o uso de formulações comerciais de nim e de inseticida biológico no controle de *S. frugiperda*, em casa-de-vegetação e campo, foi efetuado o presente trabalho.

Material e Métodos

Experimento de campo - safra 2005. No primeiro semestre de 2005 instalou-se experimento no Sítio do Araçá, Km13, em Camaragibe (Aldeia), PE, com o milho Híbrido Duplo AG 405. Utilizaram-se as formulações comerciais de nim (Natuneem[®] 10 mL/L, Neemseto[®] 5 e 10 mL/L) e Bta (Xentari[®] 10 g/L), e testemunha, em delineamento experimental de blocos ao acaso com quatro repetições. A dimensão da parcela foi de 4 x 5m, contendo 20 plantas/linha e 80 plantas no total; a área total do experimento foi de 840m². Efetuaram-se três aplicações dos inseticidas, aos 15, 30 e 45 dias após a emergência das plantas, utilizando-se pulverizador costal de 20L. Foram marcadas com fita colorida 10 plantas nas duas fileiras centrais da área útil de cada parcela para avaliação da

injúria foliar, nas quais foram atribuídas notas, antes de cada pulverização, segundo a escala de Carvalho (1970): 0 – plantas sem injúrias nas folhas; 1 – plantas com folhas raspadas; 2 – plantas com furos nas folhas; 3 – plantas com furos nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4 – plantas com o cartucho destruído; 5 – plantas mortas. Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Experimento de campo - safra 2006. No primeiro semestre de 2006 realizou-se outro experimento na mesma propriedade com o milho Híbrido Duplo AG 1051, utilizando-se os tratamentos com nim (Natuneem[®] 15 mL/L; Neemseto[®] 10 e 15 mL/L); Bta (Xentari[®] 10 g/L) e testemunha, seguindo a metodologia utilizada no experimento anterior. Foram efetuadas três aplicações dos inseticidas, desta vez, em menor intervalo de tempo, aos 15, 25 e 35 dias após a emergência das plantas, utilizando-se pulverizador costal de 20L.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Experimento em casa-de-vegetação. Plantas de milho Híbrido Duplo AG 1051 foram cultivadas em casa-de-vegetação da Área de Fitossanidade da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), utilizando-se vasos com capacidade de 5kg, contendo solo e húmus de minhoca na proporção de 2:1, adubados com NPK (formulação 4-14-8) e calcário (10 g por vaso). Foram semeadas cinco sementes por vaso, e após o desbaste deixaram-se apenas duas plantas. Decorridos, aproximadamente, 40 dias após a emergência, as plantas no estágio de 10 a 12 folhas foram pulverizadas com os inseticidas à base de nim (Natuneem[®] e Neemseto[®] 10 mL/L) e Bta (Xentari[®] 10 g/L) e testemunha apenas com água, utilizando-se pulverizador costal de 20L. Após duas horas, cada planta foi infestada, artificialmente, com 15 lagartas de *S. frugiperda* com idade de 0 a 24h, obtidas da criação estoque do Laboratório de Entomologia Agrícola. As lagartas foram distribuídas nas folhas próximas ao cartucho, com auxílio de um pincel de pêlo fino. Cada

tratamento constou de oito vasos, cada um com duas plantas. Após 10 dias, foram atribuídas notas às plantas, segundo a escala de Carvalho (1970). Em seguida, as plantas foram cortadas, dissecadas e avaliado o número de lagartas sobreviventes. O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com quatro tratamentos e oito repetições.

Os resultados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Experimento de campo - safra 2005. Na avaliação prévia efetuada aos 15 dias após a emergência das plantas, as injúrias provocadas por *S. frugiperda* em plantas de milho Híbrido Duplo AG 405, distribuíram-se uniformemente entre os tratamentos, não apresentando diferenças estatísticas ($F_{4,19}=0,73$; $P=0,5843$) (Tabela 1). Aos 30 dias, o tratamento Neemseto[®] a 10 mL/L foi o mais efetivo com nota 0,93, sendo o único a diferir da testemunha ($F_{4,19}=1,92$; $P=0,0159$). Aos 45 dias ($F_{4,19}=1,09$; $P=0,3979$) e na média geral ($F_{4,19}=0,82$; $P=0,5333$), os tratamentos foram semelhantes à testemunha, com variação de notas entre 1,15 a 1,63 e 1,07 a 1,58, respectivamente.

Em virtude do crescimento das plantas com produção de novas folhas, os índices de injúrias causados por *S. frugiperda* foram reduzidos ao longo das avaliações, em maior intensidade nos tratamentos com nim e Bta, e em menor na testemunha. As precipitações pluviométricas que ocorreram na área experimental durante o período de abril a junho foi de 1.052 mm, valor muito superior à média histórica de 445 mm dos últimos trinta anos (ITEP 2008). Esse fato não previsto deve ter influenciado, negativamente, nos resultados obtidos, pois Segundo Gassen (1996), as infestações de *S. frugiperda* são favorecidas em períodos de menores índices pluviométricos e temperaturas elevadas.

Experimento de campo - safra 2006. As notas atribuídas às injúrias de *S. frugiperda* em plantas de milho Híbrido Duplo AG 1051, também variaram entre as observações (Tabela 2). Na primeira observação aos 15 dias após o plantio, as notas foram uniformes em todos os tratamentos, variando de 1,55 a 1,93 ($F_{4,19}=0,22$; $P=0,9233$). Após a primeira pulverização, aos 25 dias as notas variaram de 1,95 (Bta) a 2,68 (Testemunha) ($F_{4,19}=0,90$; $P=0,4881$), mesmo assim não houve diferença estatística entre os tratamentos. Aos 35 dias, após a segunda pulverização, os melhores resultados foram obtidos com os tratamentos Neemseto 15 mL/L (0,93) e Bta 10 g/L (0,98), que foram os únicos que deferiram da testemunha (2,38) ($F_{4,19}=5,79$; $P=0,0050$). Na média geral, todos os tratamentos foram semelhantes à testemunha ($F_{4,19}=3,06$; $P=0,0597$), apesar das notas variarem de 2,53 (Testemunha) a 1,47 (Neemseto[®] 15 mL/L).

No presente trabalho ficou comprovado que formulações de nim têm potencial para controlar infestações de *S. frugiperda*, em condições de campo nos dois experimentos efetuados, pois vários estudos já demonstraram o seu desempenho em laboratório e/ou casa-de-vegetação (Rodríguez & Vendramim 1998, Prates *et al.* 2003, Viana & Prates 2005). Viana *et al.* (2007) observaram, em casa-de-vegetação, que o extrato aquoso de folhas de nim (10.000 ppm) aplicado com a conjugação de bicos em leque 80.01/80.04./80.01, em três pulverizações, foi eficiente no controle de lagartas de *S. frugiperda* em milho, e que todas as concentrações (10.000, 7.500 e 5.000 ppm) utilizadas afetaram negativamente o desenvolvimento larval. O principal modo de atuação do nim é por ingestão, sendo bastante reduzido o efeito de contato (Viana & Prates 2005). Para o sucesso no controle de *S. frugiperda* é importante uma cobertura uniforme das folhas durante a pulverização, sendo comum que parte das folhas apresentem áreas sem deposição da calda inseticida. Outro fator que pode contribuir para a redução da eficiência é o rápido crescimento da área foliar e a emergência de novas folhas, possibilitando que as lagartas se alimentem de tecidos

foliares não tratados, que foram desenvolvidos após a aplicação. O fato indica a importância dos tipos de bicos para a distribuição uniforme da calda sobre as folhas (Viana *et al.* 2007).

O efeito do nim sobre os insetos deve-se, principalmente, ao limonóide azadiractina, presente nas folhas e sementes, que é bastante conhecido pelas suas propriedades inseticidas e como regulador de crescimento (Martinez & van Emden 2001), comprovado em aproximadamente 400 espécies de insetos (Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Mordue (Luntz) & Nisbet 2000, Martinez 2002).

A patogenicidade de Bta para lagartas de *S. frugiperda* em condições de campo, obtida nesse trabalho, é de grande importância, tendo em vista que outras formulações de Bt existentes no mercado brasileiro, como exemplo, Dipel, não são eficientes no controle dessa praga. O isolado HU4-2 de Bta foi igualmente patogênico a *S. frugiperda*, em comparação ao Xentari[®], produto comercializado no mercado brasileiro, comprovadamente eficiente no controle dessa praga (Martínez *et al.* 2004).

Experimento em casa-de-vegetação. Os tratamentos à base de nim (Natuneem[®] e Neemseto[®]) e Bta (Xentari[®]) foram altamente eficientes no controle de lagartas de *S. frugiperda* em milho Híbrido Duplo AG 10531, cultivado em casa-de-vegetação, apresentando notas 0,7; 0,6; e 0,3, respectivamente, diferindo apenas da testemunha (3,1). ($F_{3,60}=35,01$; $P<0,0001$) (Tabela 3). O número de lagartas sobreviventes, também foi afetado pelos tratamentos, com maior destaque para Natuneem[®] 10 mL/L, que reduziu em 100% a sobrevivência, seguido por Neemseto[®] 10 mL/L, Bta 10 g/L e testemunha, com médias de 0,3; 0,3; e 3,0 lagartas sobreviventes ($F_{3,60}=24,35$; $P<0,0001$), respectivamente.

Lagartas mais novas de *S. frugiperda* foram mais susceptíveis aos produtos de nim. Extrato aquoso de folhas de nim foram altamente tóxicos para lagartas recém-eclodidas (Viana & Prates 2003), corroborando com os resultados aqui obtidos. Por outro lado, em lagartas com até oito dias de

idade (3^o ínstar), a mortalidade também foi significativa, mas decresceu, acentuadamente, para lagartas com mais de 10 dias de idade (Viana & Prates (2005). A morte dos insetos-alvo provocada pelo mim depende da concentração e do tempo de exposição (Schmutterer 1988, Mordue & Blackwell 1993). Outro aspecto a considerar é que os insetos são capazes de diferenciar as partes tratadas e não tratadas (Schmutterer 1990), evidenciando que a pulverização deve ser cuidadosamente realizada em alto volume e a distribuição da calda a mais uniforme possível.

A eficácia de Bta na redução das injúrias provocadas por *S. frugiperda* e no número de lagartas sobreviventes, também, foi confirmada no experimento em casa-de-vegetação (Tabela 3).

No presente estudo, os inseticidas à base nim e Bta mostraram-se promissores para o controle de *S. frugiperda* em casa-de-vegetação e em campo. No entanto, sugere-se que outros experimentos sejam realizados em campo, testando-se novos intervalos de aplicação sob uma maior pressão populacional da praga, visando confirmar a eficácia desses produtos, no sentido de poder utilizá-los como uma alternativa aos inseticidas sintéticos, em programas de manejo integrado de pragas. Torna-se, também, necessário avaliar os seus efeitos sobre os inimigos naturais de *S. frugiperda*.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Mário Castro pela cessão e manutenção das áreas de cultivo de milho utilizadas nos experimentos e ao CNPq pela concessão da bolsa de doutorado ao primeiro autor.

Literatura citada

Aronson, A. 1995. The protoxin composition of *Bacillus thuringiensis* insecticidal inclusions affects solubility toxicity. Appl. Environ. Microbiol. 61: 4057-4060.

- Beserra, E.B. & J.R.P. Parra. 2004.** Biologia e parasitismo de *Trichogramma atopovirilia* Oatman & Platner e *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae) em ovos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Bras. Entomol. 48: 119-126.
- Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2003.** Bioatividade de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 32: 665-669.
- Bogorni, P.C. & J.D. Vendramim. 2005.** Efeito subletal de extratos aquosos de *Trichilia* spp. sobre o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) em milho. Neotrop. Entomol. 34: 311-317.
- Carvalho, R.P.L. 1970.** Danos, flutuação da população, controle e comportamento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) e susceptibilidade de diferentes genótipos de milho, em condições de campo. Piracicaba, ESALQ-USP, 170p. Tese de Doutorado.
- CONAB (Companhia Nacional de Abastecimento). 2008.** Disponível em: <http://www.conab.gov.br/conabweb/download/safra/estudo_safra.pdf>. Acesso: 01/fev./2008.
- Cruz, I. & F.T. Turpin. 1982.** Efeito da *Spodoptera frugiperda* em diferentes estádios de crescimento da cultura de milho. Pesqu. Agropecu. Bras. 17: 355-360
- Cruz, I. 1995.** A lagarta do cartucho do milho. EMBRAPA – CNPMS, Sete Lagoas. 45p. (Circular Técnica, 21).
- Diez-Rodríguez, G.J. & C. Omoto. 2001.** Herança da resistência de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) a lambda-cialotrina. Neotrop. Entomol. 30: 311-316.
- Gabriel, P., M.A.G.C. Tavares & J.D. Vendramim. 2006.** Avaliação de bioatividade de extratos de *Trichilia pallida* e *T. pallens* sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Rev. Agric. 81: 10-23.

- Gassen, D.N. 1996.** Manejo de pragas associadas à cultura do milho. Aldeia Norte, Passo Fundo, 134p.
- Herrnstadt, C., G.C. Soares, E.R. Wilcox & D.L.A. Edwards. 1986.** New strain of *Bacillus thuringiensis* with activity against coleopteran insects. *Biotechnol.* 4: 305-308.
- ITEP (Instituto Tecnológico do Estado de Pernambuco). 2008.** Disponível em: <<http://www.itep.br/meteorologia/lamepe/index.html>>. Acesso: 01/mar./2008.
- Marcomini, A.M., P.C. Bogorni, J.D. Vendramim & L.F.A. Alves. 2006.** Avaliação da bioatividade de extratos de *Prunus sellowii* Koehne e óleo de *Gossypium hisrsutum* L., em comparação ao nim sobre *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). XVI Semana de Biologia, CD, UNIOESTE, Cascavel, PR.
- Martínez, C., M. Porcar, A. López, I.R. Scudero, F.T. Pérez-Llarem & P. Caballero. 2004.** Characterization of a *Bacillus thuringiensis* strain with a broad spectrum of activity against lepidopteran insects. *Entomol. Exp. Appl.* 111: 71-74.
- Martinez, S.S. & H.F. van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. *Neotrop. Entomol.* 30: 113-125.
- Martinez, S.S. 2002.** (ed.). O nim – *Azadirachta indica*: Natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 142p.
- Monnerat, R.G., A.C. Batista, P.T. Medeiros, E.S. Martins, V.M. Melatti, L.B. Praça, V.F. Dumas, C. Morinaga, C. Demo, A.C.M. Gomes, R. Falcão, C.B. Siqueira, J.O. Silva-Werneck & C. Berry. 2007.** Screening of Brazilian *Bacillus thuringiensis* isolates active against *Spodoptera frugiperda*, *Plutella xylostella* and *Anticarsia gemmatalis*. *Biol. Control* 41: 291-295.

- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. *J. Insect Physiol.* 39: 903-924.
- Mordue (Luntz), A.J. & A.J. Nisbet. 2000.** Azadirachtin from the neem tree *Azadirachta indica*: its action against insects. *An. Soc. Entomol. Bras.* 29: 615-632.
- Prates, H.T., P.A. Viana & J.M. Waquil. 2003.** Atividade de extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*) sobre *Spodoptera frugiperda*. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 38: 437-439.
- Reed, E. & S.K. Majumdar. 1998.** Differential cytotoxic effects of azadirachtin on *Spodoptera frugiperda* and mouse cultured cells. *Entomol. Exp. Appl.* 89: 215-221.
- Rodríguez R., C.. & J.D. Vendramim. 1998.** Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Man. Int. Plagas* 48: 11-18.
- Roel, R.A. & J.D. Vendramim. 1999.** Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). *Sci. Agric.* 56: 581-586.
- Schmutterer, H. 1988.** Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.* 34: 713-719.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Siegel, J.P. 2001.** The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J. Invertebr. Pathol.* 77: 13-21.
- Silva, S.M.B., J.O. Silva-Werneck, R. Falcão, A.C. Gomes, R.R. Fragoso, M.T. Quezado, O.B.O. Neto, J.B. Aguiar, M.F.G. Sá, A. Bravo & R.G. Monnerat. 2004.** Characterization of novel Brazilian *Bacillus thuringiensis* strains active against *Spodoptera frugiperda* and other insect pests. *J. Appl. Entomol.* 128: 102-107.

- Torrecillas, S.M. & J.D. Vendramin. 2001.** Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci. Agric.* 58: 27-31.
- Viana, P.A. & H.T. Prates. 2005.** Mortalidade de lagarta de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*). *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 4: 316-322.
- Viana, P.A., H.T. Prates & P.E.A. Ribeiro. 2007.** Efeito de extratos de nim e de métodos de aplicação sobre o dano foliar e o desenvolvimento da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, em milho. *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 6: 17-25.
- Waquil, J.M. 1997.** Amostragem e abundância de cigarrinhas e danos de *Dalbulus maidis* (Delong & Wolcott) (Homoptera: Cicadellidae) em plântulas de milho. *An. Soc. Entomol. Bras.* 26: 27-33.

Tabela 1. Notas¹ atribuídas ao ataque de plantas de milho Híbrido Duplo AG 405 por *S. frugiperda*, tratadas com produtos formulados de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta), em campo durante a safra 2005.

Tratamento	Dias após emergência das plantas			Média ^{2,3}
	15 ¹	30	45	
Natuneem [®] 10 mL/L	1,75±0,12a	1,38±0,14ab	1,15±0,08a	1,26±0,11a
Neemseto [®] 5 mL/L	1,83±0,13a	1,50±0,13a	1,25±0,13a	1,38±0,13a
Neemseto [®] 10 mL/L	1,90±0,14a	0,93±0,10b	1,20±0,16a	1,07±0,14a
Bta 10 g/L	1,95±0,13a	1,10±0,07ab	1,10±0,07a	1,10±0,00a
Testemunha	1,85±0,12a	1,53±0,15a	1,63±0,19a	1,58±0,05a

¹Avaliação pré-tratamento.

²Escala de notas: 0 – plantas sem injúrias nas folhas; 1 – plantas com folhas raspadas; 2– plantas com furos nas folhas; 3 – plantas com furos nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4 – plantas com o cartucho destruído; 5 – plantas mortas (Carvalho 1970).

³Médias (±EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$). Valores obtidos de quatro repetições.

Tabela 2. Notas¹ atribuídas ao ataque de plantas de milho Híbrido Duplo AG 1051 por *S. frugiperda*, tratadas com produtos formulados de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta), em campo durante a safra 2006.

Tratamento	Dias após emergência das plantas			Média ^{2,3}
	15 ¹	25	35	
Natuneem [®] 15 mL/L	1,63±0,21a	2,50±0,49a	1,88±0,39ab	2,19±0,31a
Neemseto [®] 15 mL/L	1,55±0,36a	2,28±0,42a	0,93±0,40b	1,61±0,68a
Neemseto [®] 10 mL/L	1,80±0,41a	2,70±0,35 ^a	1,63±0,43ab	2,17±0,54a
Bta 10 g/L	1,93±0,28a	1,95±0,41 ^a	0,98±0,44b	1,47±0,49a
Testemunha	1,93±0,31a	2,68±0,41a	2,38±0,26a	2,53±0,15a

¹Avaliação pré-tratamento.

²Escala de notas: 0 – plantas sem injúrias nas folhas; 1 – plantas com folhas raspadas; 2 - plantas com furos nas folhas; 3 – plantas com furos nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4 – plantas com o cartucho destruído; 5 – plantas mortas (Carvalho 1970).

³Médias (±EP) seguidas da mesma letra na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$). Valores obtidos de quatro repetições.

Tabela 3. Notas atribuídas e lagartas sobreviventes (média ± EP) de *S. frugiperda* em plantas de milho Híbrido Duplo AG 1051, tratadas com produtos formulados de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta).

Tratamento	Escala de notas ^{1,2}	Lagartas sobreviventes ^{2,3}
Natuneem [®] 10 mL/L	0,7 ± 0,23b	- ⁴
Neemseto [®] 10 mL/L	0,6 ± 0,22b	0,3 ± 0,16b
Bta 10 g/L	0,3 ± 0,22b	0,3 ± 0,25b
Testemunha	3,1 ± 0,09a	3,0 ± 0,57a

¹Escala de notas: 0 – plantas sem injúrias nas folhas; 1 – plantas com folhas raspadas; 2 – plantas com furos nas folhas; 3 – plantas com furos nas folhas e alguma lesão no cartucho; 4 – plantas com o cartucho destruído; 5 – plantas mortas (Carvalho 1970).

²Médias (quatro repetições) seguidas de mesma letra na coluna não diferem entre si pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

⁴Ausência de sobrevivência (Exclusão da análise estatística).

CAPÍTULO 3

SUSCEPTIBILIDADE DE ESTÁDIOS LARVAIS DE *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) AO NIM (*Azadirachta indica* A. JUSS) E *Bacillus*
thuringiensis subsp. *aizawai*

MARCILEYNE P. L. LIMA, JOSÉ V. OLIVEIRA, MANOEL G. C. GONDIM JUNIOR E EDMILSON J.

MARQUES²

²Departamento de Agronomia – Entomologia, Universidade Federal Rural de Pernambuco, Av.

Dom Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, 52171-900, Recife, PE.

¹Lima, M.P.L., J.V. Oliveira, M.G.C. GONDIM JUNIOR & E.J. Marques. Susceptibilidade de estádios larvais de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) ao nim (*Azadirachta indica* A. Juss) e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. Ciência e Agrotecnologia.

RESUMO - A utilização de inseticidas botânicos e bioinseticidas constituem uma alternativa promissora para o manejo de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith), na cultura do milho. O presente trabalho objetivou avaliar o efeito de formulações comerciais de nim (Neemseto[®] e Natuneem[®]) e de *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* - Bta (Xentari[®]) sobre esta praga em laboratório. Lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade foram alimentadas com folhas de milho submersas na calda dos inseticidas Neemseto[®], Natuneem[®] e Xentari[®] nas concentrações 2,5; 5,0; 7,5; 10 mL ou g/L e testemunha (água). Os efeitos dos inseticidas dependeram da concentração utilizada, pois provocaram mortalidade crescente das lagartas, alongaram o período larval e reduziram o peso larval. Em alguns casos, também, reduziram o peso das pupas, a viabilidade pupal e a longevidade de adultos. Lagartas com 0-24 h de idade foram mais susceptíveis às concentrações de Neemseto[®] e Bta a 5 e 10 mL ou g/L, em relação às com 10 dias de idade. Com o aumento da concentração, os efeitos sobre o peso das pupas e viabilidade pupal foram, também, maiores em lagartas com 0-24 h de idade.

PALAVRAS-CHAVE: Insecta, lagarta-do-cartucho, Meliaceae, inseticida botânico, bioinseticida

SUSCEPTIBILITY OF TWO LARVAL AGES OF *Spodoptera frugiperda* (J.E. SMITH)
(LEPIDOPTERA: NOCTUIDAE) TO NEEM (*Azadirachta indica* A. JUSS) AND TO *Bacillus*
thuringiensis subsp. *aizawai*

ABSTRACT – The utilization of botanical insecticide and biological insecticides constitute a promising alternative to control *Spodoptera frugiperda* on corn crop. Thus, the present work evaluated the effect of commercial formulation of neem (Natuneem[®] and Neemseto[®]) and *Bacillus thuringiensis* subsp. *Aizawai* - Bta (Xentari[®]) on this pest under laboratory conditions. Newly hatched and 10-d old fall armyworm larvae were fed with corn leaves treated with the insecticides at concentration of 2.5, 5.0, 7.5, and 10 mL or g/mL and control (water). An increased effect of the insecticides was found as function of increasing concentration, causing higher larval mortality, longer larval period and lower larval weight. In some cases, reduction of pupa weight, pupa viability and longevity of adults were also verified. Newly hatched larvae (ca. 0-24 h old) were more susceptible to 5 and 10 mL or g/L of Neemseto[®] and Bta as compared with 10-d old larvae. With the increase of insecticide concentration, the effects on the pupa weight and pupa viability were also greater on larvae of 0-24h old.

KEY WORDS: Insecta, fall armyworm, Meliaceae, botanical insecticide, bioinsecticide

Introdução

O milho é uma das culturas mais importantes no contexto econômico e social no mundo como produtora de grãos e subprodutos. A sua produtividade pode ser reduzida em 34 a 40% devido ao ataque freqüente da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) (Cruz *et al.* 1999).

O uso de inseticidas sintéticos para o controle de *S. frugiperda*, desconsiderando-se os princípios do manejo integrado de pragas, tem produzido conseqüências indesejáveis, como a redução de populações de inimigos naturais, seleção de populações resistentes, aumento dos custos de produção e problemas de contaminação ambiental (Cruz *et al.* 1999, Diez-Rodríguez & Omoto 2001). Desta forma, pesquisas com plantas que apresentam atividade inseticida têm sido intensificadas, como uma alternativa aos inseticidas sintéticos, bem como pela baixa toxicidade ao homem e animais, e rápida degradação no meio ambiente (Roel 2001, Bogorni & Vendramim 2005). Nesse particular, um grande destaque tem sido dado à planta, *Azadirachta indica* A. Juss, popularmente conhecida como nim indiano, que tem como principal ingrediente ativo, o limonóide azadiractina. Esta substância provoca os seguintes efeitos sobre os insetos: toxicidade, repelência, redução do crescimento, da oviposição, da viabilidade de ovos e deterrência alimentar (Mordue (Luntz) & Blackwell 1993, Martinez & van Emden 2001, Roel 2001, Viana & Prates 2003). O nim é utilizado como óleo emulsionável, extratos aquosos e/ou orgânicos, pó de sementes, folhas e ramos no controle de *S. frugiperda* e várias espécies-praga (Prates *et al.* 2003, Bogorni & Vendramim 2005, Gabriel *et al.* 2006).

O inseticida biológico *Bacillus thuringiensis* Berliner, também, é um promissor agente de controle de *S. frugiperda*. É uma bactéria aeróbica que sintetiza inclusões cristalinas durante a esporulação, as quais são compostas por um ou mais polipeptídios, conhecidos como delta-endotoxinas, ou proteínas Cry, que se acumulam na célula bacteriana. É patogênica para mais de

130 espécies de insetos das ordens Lepidoptera, Diptera e Coleoptera, sendo de baixa toxicidade para artrópodos não-alvo, pássaros e mamíferos (Siegel 2001). Lagartas de *S. frugiperda* apresentam baixa susceptibilidade às toxinas de *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* (Btk), frequentemente usadas no controle de lepidópteros-praga (Nyouki *et al.*, 1996), indicando a necessidade da descoberta de isolados mais patogênicos. Assim, o isolado S93 de Btk foi cerca de 4803 vezes mais patogênico para lagartas de 3^o instar de *S. frugiperda*, em relação ao HD-1 do produto comercial Dipel (Silva-Werneck *et al.* 2000). Os isolados de *B. thuringiensis* S701; S764 e S1265. foram mais patogênicos para lagartas do 2^o instar desta praga, em relação ao isolado HD-1 (Silva *et al.* 2004). Outros isolados da coleção de germoplasma da Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia (SO550, SO845, S1905 e Btk), apresentaram CL₅₀ de 27; 24; 18 e 85 ng/cm² para lagartas deste mesmo instar (Monnerat *et al.* 2007). Isolados de *B. thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta) são considerados particularmente ativos contra lagartas de *Spodoptera* spp. (Beegle & Yamamoto 1992), bem como a formulação comercial Xentari (Bta), quando comparada ao Dipel[®] (Btk). No entanto, o isolado HU4-2 de Bta foi tão patogênico para *S. frugiperda* em laboratório quanto Xentari[®] (Martínez *et al.* 2004).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a bioatividade de produtos formulados de nim e de Bta, sobre dois estádios larvais de *S. frugiperda*, em condições de laboratório.

Material e Métodos

Os experimentos foram conduzidos no Laboratório de Entomologia Agrícola do Departamento de Agronomia, Área de Fitossanidade, da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), sob condições de temperatura de $29,9 \pm 1,3^{\circ}\text{C}$ e $56 \pm 2,2\%$ de UR, registradas diariamente, e fotofase de 12h.

Criação de *S. frugiperda*. Para o estabelecimento da criação foram coletadas lagartas de *S. frugiperda*, de diferentes idades, juntamente com posturas, em campos de milho da UFRPE. Novas coletas de insetos foram realizadas na mesma área em outras épocas, adicionando-as à criação inicial, com o intuito de aumentar a variabilidade genética da população. No laboratório, as lagartas foram mantidas em folhas de milho Híbrido Duplo AG 1051 com 20 a 40 dias de idade, cultivado em campo e/ou casa-de-vegetação com a finalidade de manutenção da criação estoque. Baseando-se na metodologia de Rodriguez & Vendramin (1998), as pupas obtidas foram sexadas e separados oito casais por gaiola, constituída de tubo de PVC de 10 cm de diâmetro por 20 de altura, forrada internamente com papel sulfite branco para obtenção dos ovos. Os adultos foram alimentados com solução de mel a 10%, embebida em algodão, e colocada em recipiente no interior das gaiolas. Os ovos foram coletados e transferidos para placas de Petri forradas com papel de filtro umedecido em água destilada para incubação e, posterior, eclosão das lagartas. Esse procedimento foi repetido, continuamente, visando assegurar a criação e multiplicação da praga para os experimentos.

Efeito de formulações comerciais de nim e Bta sobre lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade. Foram instalados três bioensaios para avaliar a bioatividade de formulações de nim (Neemseto[®] da Cruangi Neem do Brasil Ltda, Timbaúba, PE; e Natuneem[®] da Natural Rural, Araraquara, SP) e do produto biológico à base de Bta (Xentari[®], da Abbott Laboratories) sobre *S. frugiperda*, em condições de laboratório. O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado constando, para cada inseticida, de cinco concentrações (Testemunha; 2,5; 5,0; 7,5; 10 mL ou g/L) e cinco repetições compostas por 35 lagartas com 10 dias de idade, individualizadas em placas de Petri com um pedaço de folha de milho Híbrido Duplo AG 1051 de 8,0 x 4,5 cm sobre papel de filtro umedecido. Os pedaços de folha foram imersos na calda do inseticida por cinco segundos e colocados para secar à temperatura ambiente. Em seguida, foram oferecidos às

lagartas por 48 horas e substituídos, diariamente, por folhas não tratadas, anotando-se o número de lagartas mortas, sendo este procedimento realizado até a fase de pupa, quando o alimento foi suprimido. As lagartas foram pesadas aos 10 dias após a instalação do experimento e as pupas, 24 horas após a formação, as quais foram mantidas em tubos de vidro até a emergência de adultos. Os pedaços de folha da testemunha foram imersos em água destilada. Foram avaliados os seguintes parâmetros: mortalidade acumulada, peso e período larval (a partir de lagartas com 10 dias de idade), peso e período pupal, viabilidade pupal e longevidade. Os dados foram submetidos à análise de regressão e de variância.

Efeito de formulações comerciais de nim e Bta sobre lagartas de *S. frugiperda* com 0-24 h e 10 dias de idade. No primeiro bioensaio, utilizaram-se os inseticidas Neemseto[®] e Bta em duas concentrações (5 e 10 mL ou g/L) e testemunha, e 60 lagartas com 0-24 horas de idade por repetição, individualizadas em tubos de vidro de fundo chato. No segundo, utilizaram-se 40 lagartas com 10 dias de idade por repetição, individualizadas em placas de Petri. Os inseticidas foram aplicadas com pulverizador costal de 5 litros, em plantas de milho Híbrido Duplo AG 1051 semeadas em vasos de 5kg, em casa-de-vegetação. Cada vaso continha solo e húmus de minhoca na proporção de 2:1, adubados com NPK (formulação 4-14-8) e calcário (10 g por vaso). As plantas-testemunha foram pulverizadas com água. As folhas foram colhidas duas horas após às pulverizações, acondicionadas em sacos de papel e conduzidas ao laboratório, sendo cortadas em pedaços de 2x2 cm para alimentação das lagartas com 0-24 horas, e de 5x4 cm para lagartas com 10 dias de idade. Foram utilizadas 12 plantas para cada concentração de inseticida, distribuídas em duas plantas/vaso. A avaliação foi realizada, diariamente, observando-se os seguintes parâmetros: mortalidade acumulada, peso pupal e viabilidade pupal. Os bioensaios foram conduzidos no delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e seis repetições para lagartas com 0-24 h, e cinco tratamentos e quatro repetições para lagartas com 10 dias de idade. Os resultados

foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey HSD ($P \leq 0,05$).

Resultados e Discussão

Efeito de formulações comerciais de nim e Bta sobre lagartas de *S. frugiperda* com 10 dias de idade. Para o produto Natuneem[®], apenas na maior concentração obteve-se mortalidade larval, em torno de 10% aos dois dias da aplicação. A maior mortalidade larval foi verificada na concentração 10 mL/L (62,9%) (Fig. 1), denotando efeito inseticida além de insetistático, pois todas as concentrações alongaram o período larval, cuja duração foi de 13,7 dias na maior concentração e de 10,3 dias na testemunha ($F_{4,35}=8,78$; $P=0,0072$), além de uma redução no peso larval de 0,30 g na testemunha a 0,15 g na concentração 7,5 mL/L ($F_{4,35}=13,24$; $P=0,0002$) (Fig. 2); na emergência que variou de 92,1% a 75% ($F_{4,35}=0,49$; $P=0,7435$) e na longevidade de 8,2 a 5,6 dias ($F_{4,35}=1,03$; $P=0,4174$), respectivamente na testemunha e na maior concentração. O peso e a duração de pupa variaram de 0,18 a 0,19g ($F_{4,35}=0,31$; $P=0,8687$) e de 8,7 a 7,1 dias ($F_{4,35}=0,76$; $P=0,5606$).

Na avaliação realizada aos dois dias após a instalação do bioensaio, apenas a concentração 10,0 mL/L causou 20% de mortalidade das lagartas alimentadas com folhas tratadas com o produto Neemseto[®]. No entanto, observou-se aumento na mortalidade entre os tratamentos a partir do quinto dia após aplicação. Maior taxa de mortalidade ocorreu na concentração 10 mL/L de Neemseto[®] (82,9%) (Fig. 2). A mortalidade larval apresentada indica que este produto também possui efeito inseticida além de insetistático, pois todas as concentrações alongaram o período larval, cuja duração variou de 14,8 dias na maior concentração e de 9,7 dias na testemunha ($F_{4,35}=3,18$; $P=0,0768$). Deste modo, observou-se uma resposta concentração-dependente. Verificou-se, ainda, uma redução no peso larval de 0,35 a 0,11 g e pupal de 0,18 a 0,10 g, na testemunha e na concentração 10 mL/L, respectivamente. Entre os tratamentos testemunha e

concentrações 2,5 e 5 mL/L, houve redução no período pupal de 8,2 a 7,5 dias ($F_{4,35}=0,94$; $P=0,4695$), na emergência que variou de 80,0 a 74,4% ($F_{4,35}=0,50$; $P=0,7385$) e na longevidade de 7,3 a 3,7 dias (Fig. 2), nas demais concentrações os dados foram insuficientes para análise estatística.

Ao avaliar o efeito de produtos vegetais sobre a lagarta-do-cartucho em milho, Oliveira *et al.* (2007) observaram que sete dias após a pulverização já se notava a ação dos produtos na mortalidade larval, sendo que os produtos na forma de óleo e extrato aquoso de *A. indica* e extrato aquoso de *T. pallida* diferiram da testemunha, com eficiência variando entre 29,55 e 36,9% e *M. azedarach* com valores intermediários. A mesma situação verificou-se dez dias após a aplicação, evidenciando que tanto o óleo 2% como extrato aquoso de folhas e ramos de *A. indica* e de *T. pallida* a 5% causou mortalidade que variou entre 35,99 e 42,87% em comparação à testemunha. Rodríguez & Vendramim (1995 e 1996) também encontraram efeitos semelhantes com produtos à base de *A. indica* e da *T. pallida* sobre *S. frugiperda* em condições de laboratório.

Neemseto[®] provocou algumas deformações em *S. frugiperda*, caracterizadas por constrictão abdominal, ecdises incompletas, pupas e adultos com anormalidades. Resultados semelhantes aos obtidos por Martinez & van Emden (2001) que observaram redução do crescimento, deformidades e mortalidade de lagartas de *S. littoralis*, alimentadas em dieta artificial contendo azadiractina nas concentrações de 0,01ppm a 1ppm p/v e por Viana & Prates (2003), que utilizando folhas de milho submersas em extrato aquoso de folhas de nim (10 mg/mL), evidenciaram redução no desenvolvimento e mortalidade de lagartas de *S. frugiperda*.

Para o produto Neemseto[®], observou-se ainda, que lagartas morreram durante a ecdise sem conseguir liberar totalmente a exúvia, enquanto outras morreram numa fase intermediária entre pré-pupa e pupa, fato também citado por Mordue (Luntz) & Blackwell (1993) em insetos submetidos a diferentes concentrações de azadiractina, que atribuíram essas alterações à redução

na concentração do ecdisona ou atraso na sua liberação na hemolinfa. Segundo Schmutterer (1990), a ordem Lepidoptera é o grupo de insetos mais sensível ao efeito de regulador de crescimento dos derivados do nim. Esse efeito pode resultar em vários defeitos morfogenéticos e pode causar a morte dos insetos, dependendo da concentração do produto.

Nas duas maiores concentrações de Neemseto[®], poucos insetos conseguiram passar a fase adulta (2,86 e 5,71%, em cada concentração), com um período pupal de 15,0 e 8,5 dias, respectivamente. Além desses efeitos, a longevidade média na concentração de 10,0 mL/L foi de 3,5 dias. Larvas de *Spodoptera exigua* (Hübner), também tiveram sua sobrevivência reduzida em até 61%, quando alimentadas com folhas de algodão tratadas com os inseticidas nim (Ecozin[®], Agroneem[®] e Neemix[®]) em condições de laboratório (Greenberg *et al.* 2005).

Com relação ao Bta, na avaliação realizada aos dois dias após a instalação do bioensaio, a mortalidade de lagartas variou de 18% a 75% nas concentrações 2,5 e 10,0 g/L, respectivamente. Verificou-se aumento na mortalidade larval e redução no peso larval e na viabilidade pupal, de acordo com o aumento da concentração produto (Fig. 3). A mortalidade larval obtida indica que este produto tem efeito inseticida rápido. Entretanto, não foi observada diferença entre as concentrações para o período larval que variou de 18,3 a 20,4 dias ($F_{4,35}=0,39$; $P=0,8130$) e pupal de 7,2 a 8,1 dias ($F_{4,35}=0,68$; $P=0,6140$), para o peso pupal de 0,17 a 0,14 g ($F_{4,35}=1,46$; $P=0,2522$) e para a longevidade de 8,0 a 7,3 dias ($F_{4,35}=0,42$; $P=0,7910$), respectivamente para a testemunha e a concentração 10 mL/L.

foi de 5,0%. Neemseto[®] 10mL/L obteve o menor peso de pupas e menor viabilidade pupal, e Bta **Efeito de formulações comerciais de nim e Bta sobre lagartas de *S. frugiperda* com 0-24 h e 10 dias de idade.** A mortalidade causada pelos inseticidas em lagartas de *S. frugiperda* com 0 a 24 h de idade variou de 58,3% (Neemseto[®] 5mL/L) à 100% para os outros tratamentos, diferindo estatisticamente da testemunha (16,7%) (Tabela 1). O peso de pupas foi semelhante entre a

testemunha e Neemseto 10mL/L e a viabilidade pupal foi de 48,3% em comparação à testemunha (81,7%) ($P \leq 0,05$). Para lagartas com 10 dias de idade, a mortalidade provocada pelos inseticidas variou entre 7,5 a 27,5%, destacando-se Neemseto 10mL/L, Bta 5g/L e 10g/L, em relação a Neemseto 5mL/L e testemunha (5,0%). O peso de pupas foi semelhante em Neemseto 10mL/L e Bta 10g/L, diferindo dos demais tratamentos, enquanto a viabilidade pupal de 30% foi menor em Neemseto® 10mL/L ($P \leq 0,05$).

Em termos de mortalidade, lagartas de *S. frugiperda* com 0-24h de idade foram mais susceptíveis aos tratamentos com os inseticidas botânicos e biológicos em relação às com 10 dias de idade. Resultados semelhantes foram obtidos com o extrato aquoso de folhas de nim para lagartas recém-eclodidas (Viana & Prates 2003). Por outro lado, em lagartas com até oito dias de idade (3º ínstar), a mortalidade também foi significativa, mas decresceu, acentuadamente, para lagartas com mais de 10 dias de idade (Viana & Prates 2005).

A técnica de aplicação, também, tem bastante influência no controle de pragas com nim. Os insetos têm a capacidade de diferenciar as partes protegidas das não protegidas durante a aplicação (Schmutterer 1990), evidenciando que a pulverização deve ser cuidadosamente realizada em alto volume e a distribuição da calda a mais uniforme possível. Viana & Prates (2003) observaram que o nim se distribui mais uniformemente em folhas de milho submersas no extrato aquoso, em relação à pulverização. Esse resultado está de acordo com Schmutterer (1990) e Viana *et al.* (2007), que verificaram uma melhor proteção de plantas, em múltiplas aplicações do extrato aquoso de nim. Isso pode ser atribuído ao crescimento dinâmico da planta e ao surgimento de novos tecidos foliares, que serão melhor protegidos pelo maior número de aplicações. Manter a área foliar coberta uniformemente pelo extrato obriga a lagarta a alimentar-se dos tecidos tratados, pois apenas um dia de alimentação é suficiente para causar alta mortalidade (Viana & Prates 2005). Além disso, múltiplas aplicações podem ser necessárias, devido à sensibilidade da

azadiractina à fotodegradação, que contribui para reduzir a ação inseticida pelos raios ultra-violeta (Johnson *et al.* 2003).

Os maiores efeitos causados pelo inseticida Bta foram evidenciados em lagartas de *S. frugiperda* com 0-24h, em comparação às com 10 dias de idade (Tabela 1). Estes resultados estão de acordo com estudos desenvolvidos sobre a susceptibilidade de lagartas de 2º e 3º ínstars a isolados de Bt (Silva-Werneck *et al.* 2000, Silva *et al.* 2004, Polanczyk & Alves 2005, Monnerat *et al.* 2007). A susceptibilidade de lagartas de *S. frugiperda*, também, difere em relação aos isolados de Bt, pois é fato já comprovado que toxinas de Btk, têm baixa patogenicidade para lagartas de *S. frugiperda*. No entanto, o isolado S93 foi altamente patogênico para lagartas de 3º instar de *S. frugiperda*, em comparação ao HD-1 do produto comercial Dipel (Silva-Werneck *et al.* 2000).

A carência de formulações de Bt patogênicas à lagartas de *S. frugiperda* no mercado brasileiro, justificou o estudo aqui desenvolvido com o produto comercial Xentari (Bta), que tem se apresentado como promissor no controle desta praga, conforme demonstrado por Martinez *et al.* (2004), que comprovaram a semelhança na patogenicidade do isolado HU4-2 de Bta, em relação à formulação comercial.

Os inseticidas Neemseto[®] e Xentari[®], devido a sua eficiência, baixa toxicidade ao homem e animais e seletividade a diversos inimigos naturais são promissores em programas de manejo integrado de *S. frugiperda* em cultivos de milho tradicional e orgânico.

Agradecimentos

Ao CNPq pela concessão da bolsa ao primeiro autor, possibilitando a realização deste trabalho.

Literatura Citada

- Ashley, T.R. 1979.** Classification and distribution of fall armyworm parasites. Fla. Entomol. 62: 114-123.
- Fatoretto, J.C., J.A.D. Sena, M.R. Barreto, M.V. Lemos & A.L. Boiça Junior. 2007.** Associação de bioensaios e caracterização molecular para seleção de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* efetivos contra *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae). Neotrop. Entomol. 36: 737-745.
- Gonçalves-Gervásio, R.C.R. & J.D. Vendramin. 2004.** Efeito de extratos de Meliáceas sobre o parasitóide de ovos *Trichogramma pretiosum* Riley (Hymenoptera: Trichogrammatidae). Neotrop. Entomol. 33: 607-612.
- Greenberg, S.M., A.T. Showler & T.X. Liu. 2005.** Effects of neem-based insecticides on beet armyworm (Lepidoptera: Noctuidae). Insect Science 12: 17-23.
- Johnson, S., P. Dureja & S. Dhingra. 2003.** Photostabilizers for azadirachtin-A (a neem-based pesticide). J. Environ. Sci. Health 38: 451-462.
- Martinez, S.S. & H.F. van Emden. 2001.** Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera: Noctuidae) caused by azadirachtin. Neotrop. Entomol. 30: 113-125.
- Martinez, S.S. 2002.** (ed.). O nim – *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina, Instituto Agronômico do Paraná, 142p.
- Mordue (Luntz), A.J. & A. Blackwell. 1993.** Azadirachtin: an update. J. Insect Physiol. 39: 903-924.
- Mordue (Luntz), A.J. & A.J. Nisbet. 2000.** Azadirachtin from the Neem Tree *Azadirachta indica*: its actions against insects. An. Soc. Entomol. Brasil 29: 615-632.

- Mordue (Luntz), A.J., M.S.J. Simmonds, S.V. Ley, W.M. Blaney, W. Mordue, M. Nasiruddin & A.J. Nisbet. 1998.** Actions of azadirachtin, a plant allelochemical, against insects. *Pestic. Sci.* 54: 277-284.
- Oliveira, M.S.S., A.R. Roel, E.J. Arruda, A.S. Marques. 2007.** Eficiência de produtos vegetais no controle da lagarta-do-cartucho-do-milho *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Ciênc. Agrotec.* 31: 326-331.
- Patel, P.N. & M.E.M. Habib. 1986.** Levantamento e eficiência de insetos parasitos de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797) (Lepidoptera: Noctuidae). *Rev. Agric.* 61: 93-100.
- Polanczyk, R.A. & S.B. Alves. 2005.** Biological parameters of *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) (Lepidoptera: Noctuidae) assayed with *Bacillus thuringiensis* Berliner. *Sci. Agric.* 62: 464-468.
- Pratissoli, D., R.A. Polanczyk, E.D. Grecco, R.A. Ferreira & A.M. Holtz. 2007.** Efeito entomotóxico de novos isolados de *Bacillus thuringiensis* em duas populações de *Spodoptera frugiperda* oriundas de minas gerais e do espírito santo. *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 6: 140-148.
- Rodríguez H., C. & J.D. Vendramim. 1995.** Toxicidad de extractos acuosos de meliáceas en larvas de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith, 1797). *Advances en La Investigacion* 1: 61-63, 1995.
- Rodríguez H., C. & J.D. Vendramim. 1996.** Toxicidad de extractos acuosos de Meliaceae en *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae). *Man. Integ. Plagas* 42: 14-22.
- Rodríguez H., C. & J.D. Vendramim. 1998.** Uso de índices nutricionales para medir el efecto insectistático de extractos de meliáceas sobre *Spodoptera frugiperda*. *Man. Integ. Plagas* 48: 11-18.

- Roel, A.R. & J.D. Vendramin. 1999.** Desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* (J.E. Smith) em genótipos de milho tratados com extrato acetato de etila de *Trichilia pallida* (Swartz). *Sci. Agric.* 56: 581-586.
- Schmutterer, H. 1988.** Potential of azadirachtin-containing pesticides for integrated pest control in developing and industrialized countries. *J. Insect Physiol.* 34: 713-719.
- Schmutterer, H. 1990.** Properties and potential of natural pesticides from the neem tree, *Azadirachta indica*. *Annu. Rev. Entomol.* 35: 271-297.
- Silva-Werneck, J.O., J.R.M.V. Abreu Neto, A.N. Tostes, L.O. Faria, J.M.C.S. Dias. 2000.** Novo isolado de *Bacillus thuringiensis* efetivo contra a lagarta-do-cartucho. *Pesqu. Agropecu. Bras.* 35: 221-227.
- Torrecillas, S.M. & J.D. Vendramin. 2001.** Extrato aquoso de ramos de *Trichilia pallida* e o desenvolvimento de *Spodoptera frugiperda* em genótipos de milho. *Sci. Agric.* 58: 27-31.
- Viana, P.A. & H.T. Prates. 2003.** Desenvolvimento e mortalidade larval de *Spodoptera frugiperda* em folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de *Azadirachta indica*. *Bragantia* 62: 69-74.
- Viana, P.A. & H.T. Prates. 2005.** Mortalidade de lagarta de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com extrato aquoso de folhas de nim (*Azadirachta indica*). *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 4: 316-322.
- Viana, P.A., H.T. Prates & P.E.A. Ribeiro. 2007.** Efeito de extratos de nim e de métodos de aplicação sobre o dano foliar e o desenvolvimento da lagarta-do-cartucho, *Spodoptera frugiperda*, em milho. *Rev. Bras. Milho e Sorgo* 6: 17-25.

Tabela 1. Parâmetros biológicos de *S. frugiperda* alimentadas em folhas de milho tratadas com duas formulações comerciais de nim e *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai* (Bta). Temp.: $29,9 \pm 0,89^{\circ}\text{C}$, UR de $57 \pm 1,28\%$ e fotofase de 12h.

Tratamentos	Mortalidade de lagartas ^{1,2} (%)	Peso de pupas ¹ (g)	Viabilidade pupal ¹ (%)
Lagartas com 0-24 h			
Testemunha	$16,7 \pm 0,77\text{a}$	$0,15 \pm 0,01\text{a}$	$81,7 \pm 9,10\text{a}$
Neemseto [®] 5 mL/L	$58,3 \pm 1,35\text{b}$	$0,14 \pm 0,01\text{a}$	$48,3 \pm 12,22\text{b}$
Neemseto [®] 10 mL/L	100	-	-
Bta 5 g/L	100	-	-
Bta 10 g/L	100	-	-
Lagarta aos 10 dias de idade			
Testemunha	$5,0 \pm 0,57\text{a}$	$0,14 \pm 0,01\text{ a}$	$95,0 \pm 5,00\text{ a}$
Neemseto [®] 5 mL/L	$7,5 \pm 0,96\text{a}$	$0,13 \pm 0,01\text{ a}$	$70,0 \pm 9,13\text{ a}$
Neemseto [®] 10 mL/L	$17,5 \pm 2,95\text{b}$	$0,12 \pm 0,01\text{ b}$	$30,0 \pm 5,77\text{ b}$
Bta 5 g/L	$19,0 \pm 0,74\text{b}$	$0,14 \pm 0,01\text{ a}$	$77,5 \pm 4,79\text{ a}$
Bta 10 g/L	$27,5 \pm 1,40\text{b}$	$0,12 \pm 0,01\text{ b}$	$70,0 \pm 11,55\text{a}$

¹Médias (\pm EP) seguidas de mesma letra na vertical não diferem entre si pelo teste de Tukey ($P \leq 0,05$).

²Mortalidade larval acumulada.

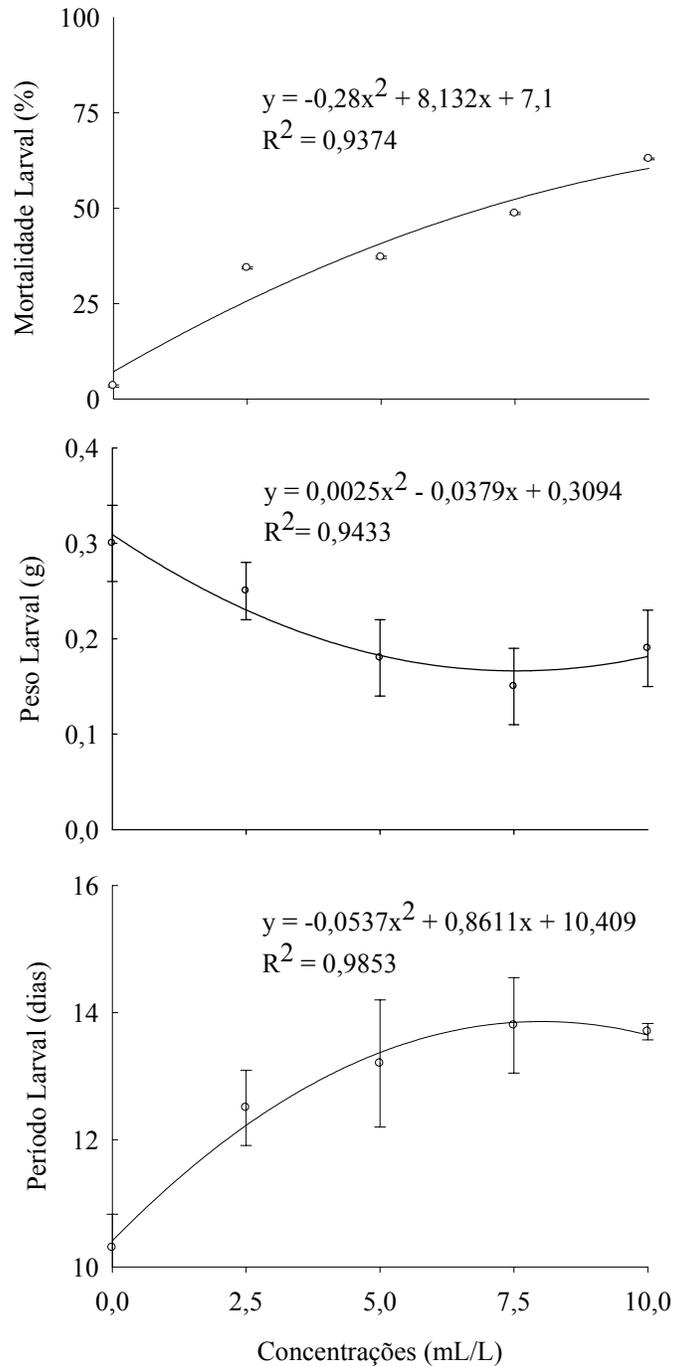


Figura 1. Mortalidade acumulada (%), peso (g) e período larval (dias) de *S. frugiperda* (Média ± EP), alimentadas em folhas de milho tratadas com Natuneem® em diferentes concentrações (mL/L). Temp. 29,2 ± 0,83°C; UR 59 ± 1,80% e fotofase de 12h.

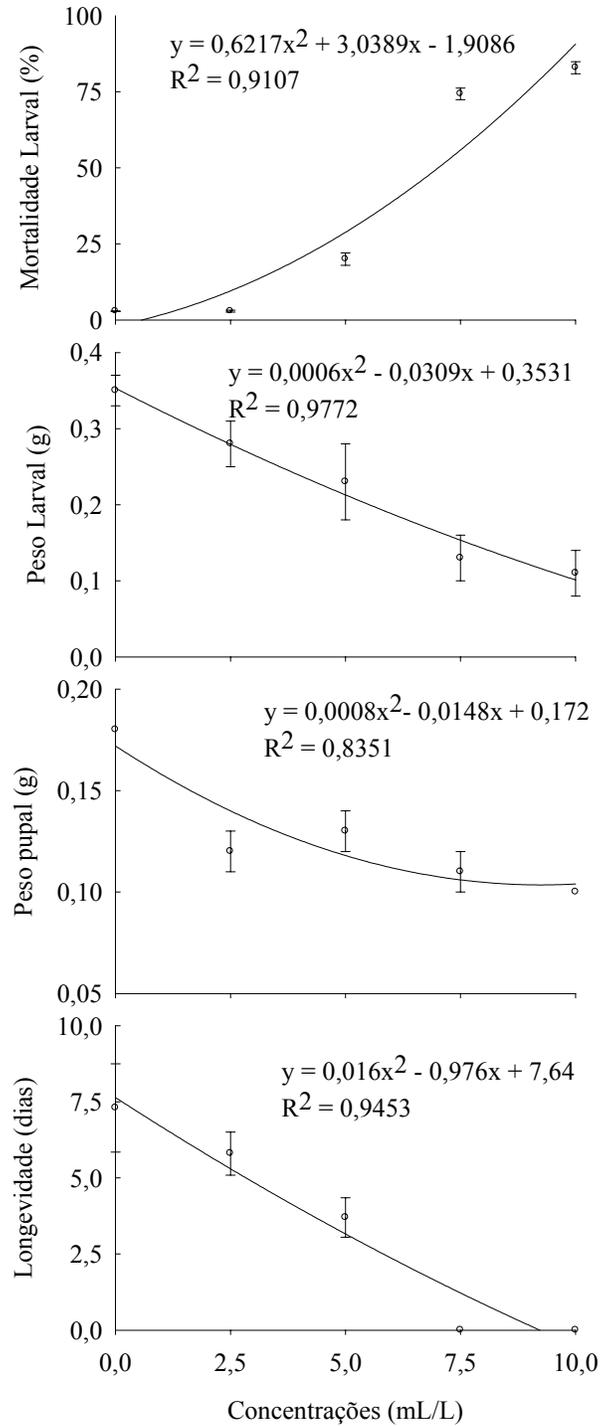


Figura 2. Mortalidade acumulada (%) e peso larval (g), peso de pupas (g) e longevidade de adultos (dias) de *S. frugiperda* (Média \pm EP), alimentadas em folhas de milho tratadas com Neemseto[®] em diferentes concentrações (mL/L). Temp. $29,9 \pm 1,29^\circ\text{C}$; UR $56 \pm 2,23\%$ e fotofase de 12h.

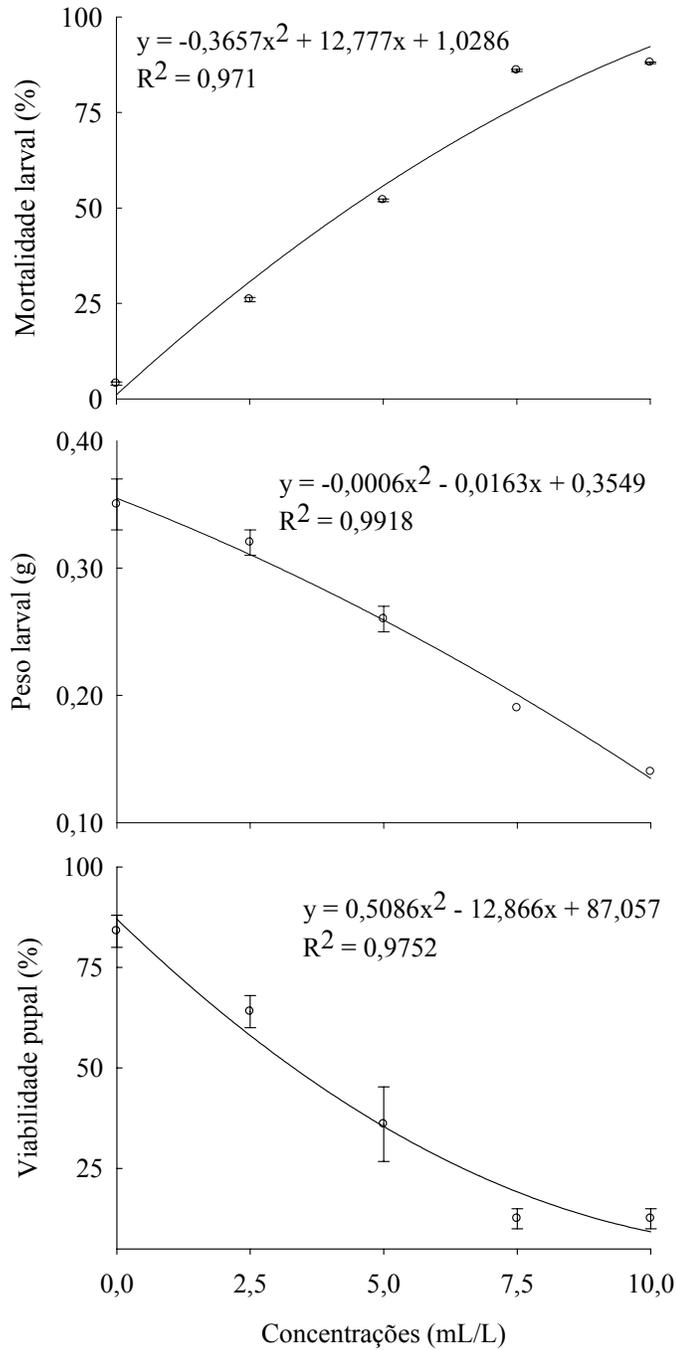


Figura 3. Mortalidade acumulada (%) e peso de lagartas (g) e viabilidade pupal (%) de *S. frugiperda* (Média \pm EP), alimentadas em folhas de milho tratadas com Bta (Xentari[®]) em diferentes concentrações (mL/L). Temp. $29,9 \pm 1,29^\circ\text{C}$; UR $56 \pm 2,23\%$ e fotofase de 12h.