



## **Avaliação da persistência de bioinseticidas de *Azadirachta indica* A.Juss (Meliaceae) em semi-campo utilizando *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith**

**Deborah Gonçalves Bezerra<sup>\*1</sup> (PG); Gabriel Modesto Beghelli<sup>2</sup> (IC); Karina Cordeiro Albernaz Godinho<sup>2</sup> (PQ); Cecília Czepak<sup>2</sup> (PQ); Joelma Abadia Marciano de Paula<sup>3</sup> (PQ)**

<sup>1</sup>Programa de Pós-Graduação em Recursos Naturais do Cerrado, UEG, Anápolis, Goiás; <sup>2</sup>Universidade Federal de Goiás, Goiânia/GO, Brasil; <sup>3</sup>Universidade Estadual de Goiás, Anápolis/GO, Brasil.

\*deborah.b@gmail.com

Resumo: O rápido avanço da atividade agrícola, devido ao uso de agrotóxicos, pode acarretar a permanência de resíduos tóxicos no ecossistema e no organismo humano. O objetivo deste trabalho foi avaliar a persistência em semi-campo do extrato seco microencapsulado (ESM) e extrato líquido (EL) das sementes de *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae) e de produto comercial, utilizando as lagartas de *Spodoptera frugiperda*. Frutos de *A. indica* foram coletados na Embrapa Arroz e Feijão, Goiás, Brasil (exsicata n° UFG-48590). As sementes frescas foram utilizadas no preparo dos bioinseticidas (pedidos de patentes BR 10 2019 022382 0 e BR 10 2020 020385 1). Para os testes *in vitro* foram determinadas as concentrações letais para *S. frugiperda* por meio de uma curva dose-resposta. No teste de persistência, os tratamentos foram pulverizados sobre milhos em vasos. Os parâmetros que foram avaliados foram mortalidade diária até o sétimo dia e peso das lagartas ao sétimo dia. A eficiência da atividade do EL foi a que durou menos tempo, visto que é um bioproduto sem proteção. O ESM apresentou resultado em período maior, em relação ao EL, visto que está em uma matriz de microencapsulação. O produto comercial teve maior tempo de permanência em semi-campo.

Palavras-chave: Neem. Microencapsulação. Persistência.

### **Introdução**

O aumento da atividade agrícola está associado ao aumento populacional e a intenção da redução da fome mundial. Porém, o rápido avanço da atividade agrícola devido ao uso de agrotóxicos sintéticos traz desvantagens ao ecossistema e à saúde humana. A persistência destes produtos no solo pode comprometer a qualidade dos recursos hídricos, com restrições ao uso do solo e até danos ao patrimônio público e privado como, a desvalorização das propriedades e danos ao meio ambiente (SANO; ALMEIDA; RIBEIRO, 2008; FRANZON *et al.*, 2009; MARTINELLI; MESSINA; FILHO, 2014; BOEREMA *et al.*, 2016).



Diante destas preocupações, alguns países, principalmente da União Europeia, têm limites máximos estabelecidos de resíduos em alimentos para importação de produtos (JARDIM; ANDRADE, 2009; SCHAEFFER *et al.*, 2010). Por isso, é importante o estabelecimento, em produtos agrícolas, da menor concentração do produto em que são observados efeitos biológicos ou adversos. Ademais, é necessário detalhar o modo de uso, pragas para as quais é recomendado, lugares onde o produto pode ser aplicado, quantidade do produto a ser utilizado, restrições ao uso (fatores climáticos, hora do dia, estação do ano, contaminação e exposição a espécies não alvo), intervalos entre aplicações e tempo de re-entrada aos locais aplicados (BRASIL, 2010). O objetivo deste trabalho foi avaliar a persistência do extrato seco microencapsulado e extrato líquido de sementes de *Azadirachta indica* A. Juss. (Meliaceae) e produto comercial em semi-campo, utilizando as lagartas *Spodoptera frugiperda*.

## Material e Métodos

Para obtenção do extrato seco microencapsulado e extrato líquido concentrado, os frutos de *Azadirachta indica* foram coletados na Embrapa Arroz e Feijão, Goiás, Brasil (exsicata n° UFG-48590). O preparo dos extratos está descrito nos pedidos de patentes BR 10 2019 022382 0 e BR 10 2020 020385 1. As concentrações de azadiractina nos extratos foram determinadas por cromatografia a líquido de alta eficiência. Para os testes em semi-campo foram determinadas anteriormente as concentrações letais para *S. frugiperda* por meio de uma curva dose-resposta.

Criação: As lagartas de *Spodoptera frugiperda* foram criadas em dieta artificial a base de feijão no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas ( $25 \pm 2^\circ\text{C}$ ;  $60 \pm 10\%$  U.R. e fotofase de 12 horas), da Universidade Federal de Goiás. As mariposas adultas das espécies foram criadas em gaiolas de tubos de PVC fechados na parte superior com voal. Foi fornecido como alimento uma solução de mel 10% v/v. Os ovos foram coletados a partir de absorventes higiênicos. Após a eclosão, as larvas foram criadas com dieta artificial de feijão. As plantas de milho foram plantadas em vasos plásticos e mantidos em estufa. Após 40 dias foram utilizados nos ensaios em semi-campo.

Efeito residual dos diferentes tratamentos sobre os insetos: Para avaliação da persistência da azadiractina em diferentes formulações foram montados experimentos com a espécie de *Spodoptera frugiperda* J.E. Smith, 1797 - Lepidoptera: Noctuidae,



utilizando 4 tratamentos: o extrato líquido concentrado (EL) das sementes de *A. indica* (CL<sub>95</sub> estimada na curva dose-resposta), extrato seco microencapsulado (ESM) das sementes de *A. indica* (CL<sub>95</sub>) e Azamax<sup>®</sup> (CL<sub>95</sub> e a especificação da bula para a espécie de 20 ppm). Estes foram pulverizados em plantas de milho (semente Ag1051) e expostas ao sol. Como testemunha foram utilizadas plantas pulverizadas somente com solução de Tween 0,1%, visto que, a diluição de todos os tratamentos foram realizada nesta solução. Em cada tratamento, foram montados ensaios em períodos diferentes: 0, 1, 2, 3, 4, 5, 6 e 12 dias após a pulverização (DAP) dos tratamentos nos milhos. As folhas de cada tratamento foram coletadas e oferecidas somente no primeiro dia para alimentação das lagartas de 48h. Após as lagartas terem se alimentado de toda a folha oferecida, a população que permaneceu viva foi mantida em dieta artificial sem tratamento. Cada tratamento foi formado por 48 lagartas, com 4 repetições de 12 lagartas. Os parâmetros que foram avaliados foram mortalidade diária até o sétimo dia e peso das lagartas ao sétimo dia, adaptado por Giongo, Vendramim, Forim (2016).

Estatística: Para a análise estatística dos dados foi utilizado Excel. Os dados com distribuição normal foram submetidos à ANOVA com um fator e os dados sem distribuição normal foram submetidos à análise não paramétrica de Kruskal-Wallis (VOLPATO, 2016), para ambos foram considerados significativos valores de  $p < 0,05$ .

## Resultados e Discussão

Durante o período de avaliação, antes da montagem do 5<sup>a</sup> bioensaio ou 4<sup>o</sup> dia, na noite anterior choveu. Verificou-se que nenhuma das formulações manteve seu efeito ao longo do tempo, tendo uma redução relativa após o 5<sup>o</sup> DAP e uma redução maior no 12<sup>o</sup> DAP. Na análise de ANOVA mostrou que houve diferença significativa entre os tratamentos ( $p=0,0079$ ), no entanto, no teste-t mostrou que somente houve diferença significativa na mortalidade dos tratamentos de Azamax<sub>b</sub> (Azamax<sup>®</sup> na concentração indicada na bula) e Azamax<sub>CL95</sub> (Azamax<sup>®</sup> na concentração estimada na curva dose-resposta) ( $p=0,0011$ ) e entre os tratamentos do EL e Azamax<sub>CL95</sub> ( $p=0,0044$ ). Na Tabela 1 e por meio da regressão dos resultados, percebe-se que a mortalidade de 70% da espécie de *S. frugiperda* permanece por cerca de 0,80 dias ( $R^2=0,6706$ ;  $y = 0,5293x^2 - 12,941x + 80,017$ ) para o EL; 3,08 dias ( $R^2=0,6607$ ;  $y = 0,5535x^2 - 14,422x + 109,21$ ) para o ESM; 0,1534 dias ( $R^2=0,6084$ ;  $y = 0,316x^2 -$



9,2299x + 68,576) para o Azamax<sub>b</sub>; e 8,13 dias ( $R^2=0,8596$ ;  $y = -4,4499x + 106,18$ ) para o Azamax<sub>CL95</sub>.

Tabela 1. Médias da mortalidade de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com formulações a base de *Azadirachta indica* em bioensaios realizados aos 0,1,2,3,4,5,6 e 12 dias após a pulverização.

Tratamento	Mortalidade (%)							
	0	1	2	3	4	5	6	12
Testemunha	-	-	-	-	-	-	-	-
EL	72,91±1,7	91,10±0,81	42,54±3,2	29,57±3,09	59,56±0,5	6,25±0,5	35,52±2,21	0±0
ESM	95,8±0,5	88,88±0,5	100±0	79,55±3,86	97,82±0,5	20,83±2	24,40±1,2	20,48±3,9
Azamax <sub>b</sub>	75±1,63	57,7±2,75	65,9±3,2	13,66±1,7	31,90±2	22,91±2,5	51,08±2	0±0,5
Azamax <sub>CL95</sub>	100±0	97,77±0,5	97,8±0,5	95,45±1	100±0	77,08±5,5	86,6±1,29	47,7±4,11

Mortalidade foi corrigida pela fórmula de Schneider-Orelli (1947).

Pelo teste de ANOVA notou-se que houve diferença significativa ( $p=0,034$ ) entre os tratamentos na inibição de crescimento de *S. frugiperda*. A análise realizada pelo teste-t mostrou que houve diferença significativas na inibição do crescimento entre os tratamentos EL e Azamax<sub>CL95</sub> ( $p=0,03186$ ); EL e Azamax<sub>b</sub> ( $p=0,03186$ ); Azamax<sub>CL95</sub> e Azamax<sub>b</sub> ( $p=0,02307$ ). Na Tabela 2 e por meio da regressão dos resultados, percebe-se que a inibição do crescimento de 70% da espécie de *S. frugiperda* permanece por cerca de 2,13 dias ( $R^2=0,8841$ ;  $y = 0,8585x^2 - 18,604x + 105,78$ ) para o EL, 6,40 dias ( $R^2=0,8415$ ;  $y = -0,0607x^2 - 5,2072x + 105,82$ ) para o ESM, 2,27 dias ( $R^2=0,9894$ ;  $y = 0,4918x^2 - 13,68x + 98,615$ ) para o Azamax<sub>b</sub> e 9,44 dias ( $R^2=0,7929$ ;  $y = -0,364x^2 + 0,4889x + 97,825$ ) para o Azamax<sub>CL95</sub>.

Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Giongo, Vendramim, Forim (2016), em que nanoformulações a base das sementes de *A. indica* após 7 dias de aplicação ainda mostravam efeito de 23, 85 – 9,27% na mortalidade de *S. frugiperda*.

Tabela 2. Médias do índice de inibição de crescimento de lagartas de *Spodoptera frugiperda* alimentadas com folhas de milho tratadas com formulações a base de *Azadirachta indica* em bioensaios realizados aos 0,1,2,3,4,5,6 e 12 dias após a pulverização.

Tratamento	Inibição de Crescimento (%)							
	0	1	2	3	4	5	6	12
Testemunha	-	-	-	-	-	-	-	-
EL	97,9±0,01	95,5±0,01	86,8±0,03	44,8±0,09	48,8±0,05	16,2±0,02	38,2±0,05	5,8±0,03
ESM	99,9±0,00007	99,3±0,001	100±0	92±0,01	95,7±0,004	84,2±0,03	52±0,07	37±0,008
Azamax <sub>b</sub>	95,7±0,019	87,4±0,03	76,8±0,5	61,3±0,05	51,9±0,1	36,9±0,06	37,3±0,07	5,3±0,01
Azamax <sub>CL95</sub>	99,97±0	99,9±0	99,9±0	77±0,01	100±0	97,54±0	88,22±0	50,4±0,04



## Considerações Finais

A eficiência da atividade do EL foi a que durou menos tempo, visto que é um bioproduto sem proteção. O ESM apresentou resultado por período maior, em relação ao EL, visto que está em uma matriz de microencapsulação. Já o produto comercial (Azamax<sub>CL95</sub>) teve maior tempo de permanência em relação aos outros tratamentos. Esses resultados são importantes para implementação do Manejo Integrado de Pragas, como por exemplo, estabelecer o período adequado para a reaplicação de inseticidas, evitar sobreposição de efeitos com outros agrotóxicos ou até reajustar a dose a ser aplicada em campo.

## Agradecimentos

À CAPES; ao CNPq e à FAPEG pelo apoio financeiro ao projeto.

## Referências

- BOEREMA, A. *et al.* Soybean Trade: Balancing Environmental and Socio – Economic Impacts of Intercontinental Market. **Plos One**, 11:e015522, 2016.
- BRASIL. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **RDC nº 34, de 16 de agosto de 2010**. Brasília: ANVISA, 2010.
- FRANZON, R.C. *et al.* **Araçás do Gênero *Psidium***: principais espécies, ocorrências, descrição e usos. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF, 2009.
- GIONGO, A.M.M.; VENDRAMIM, J.D.; FORIM, M.R. Evaluation of neem-based nanoformulations as alternative to control fall armyworm. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 40, n. 1, p. 26-36, 2016. DOI: 10.1590/S1413-70542016000100002.
- JARDIM, I.C.S.F.; ANDRADE, J.A. Resíduos de agrotóxicos em alimentos: uma preocupação ambiental global – um enfoque às maçãs. **Química Nova**, v. 32, n. 4, p. 996-1012, 2009.
- MARTINELLI, G.; MESSINA, T.; FILHO, L. **Livro vermelho da flora do Brasil – Plantas raras do Cerrado**. 1 ed. Rio de Janeiro: Andrea Jakobson: Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro: CNCFlora, 2014.
- SANO, S.M.; ALMEIDA, S.P.; RIBEIRO, J.F. **Vascular do bioma Cerrado**: checklist com 12.356 espécies. Planaltina: Embrapa Cerrados, 2008.
- SCHAEFFER, A.; VAN DEN BRINK, P.; HEIMBACH, F.; HOY, S. P. **Semi-field methods for the environmental risks assessment of pesticides in soil**. Boca Raton: CRC Press, 2010. DOI: 10.1201/9781439828595.
- SCHNEIDER-ORELLI, O. **Entomologisches Praktikum**: Einfuehrung in die land – und forst wirtschaftliche In sektkunde. Ararau: ZweiteAufl, 1947.
- VOLPATO, G.L. **Estatística Sem Dor!!!** Botucatu: Best Writing, 2016.