



Avaliação do efeito letal de produtos fitossanitários alternativos utilizados na agricultura orgânica sobre o predador *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae)

Evaluation of lethal effects of phytosanitary products used in the organic agriculture on *Eriopis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae)

T. S. Souza¹, G. C. M. Berber², A. L. S. Resende¹, M. C. A. Fernandes¹, R. N. Pereira¹, E. L. A. Menezes¹

¹ Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro

² Faculdade de Sinop

Author for correspondence: thiagosampaio.agro@gmail.com

Resumo. O presente trabalho objetivou avaliar em laboratório a seletividade de defensivos alternativos comumente utilizados na agricultura orgânica à *Eriopis connexa*, inseto predador de pulgões. Os tratamentos consistiram na pulverização de quatro produtos de origem botânica (extrato de alho, extrato de citronela, extrato de fumo, extrato de pimenta) isoladamente e a mistura desses quatro produtos (“garrafada”), todos dissolvidos em água destilada na concentração de 8%, e da calda bordalesa dissolvida em água destilada na concentração de 1%. Todos esses produtos foram elaborados pela CEPAO/Pesagro-Rio (Seropédica, RJ). No grupo controle houve a pulverização de água destilada. As aplicações dos defensivos alternativos foram realizadas em cada fase de desenvolvimento desse predador, com cinco repetições (10 indivíduos/repetição em cada fase de desenvolvimento). Após as aplicações, os insetos nas fases jovens foram mantidos em sala climatizada e após 24 horas foi avaliado o efeito letal do produto. Os adultos tratados foram avaliados 24 horas e 48 horas posteriormente à aplicação para constatação do efeito letal. Os resultados indicam que calda bordalesa e a “garrafada” não apresentaram toxicidade significativa à *E. connexa*. Não houve efeito letal pela aplicação tópica de todos os produtos testados, na fase de pupa e nos adultos dessa espécie.

Palavras-chave: Joanhinha afidófaga, seletividade de defensivos alternativos.

Abstract. The present study aimed to evaluate in the laboratory the selectivity of the natural phytosanitary products commonly used in the organic agriculture to *Eriopis connexa*, predator insect of aphids. The treatments consisted on the spray of four products of botanical origin (extract of garlic, extract of lemongrass, extract of tobacco, and extract of pepper) lonely, and the mixture of these four extracts (“mix”), all diluted in distilled water at 8%, and the Bordeaux mixture diluted in distilled water at 1%. All these products were manufactured by CEPAO/Pesagro-Rio (Seropédica, RJ, Brazil). In the control, there was only sprayed of distilled water. The sprays of these products were performed on each development stage of this predator, with five replications (10 individuals per replication in each development stage). After the sprays, the insects in immature stage were kept in acclimatized room, and after 24 hours the lethal effect of the products was evaluated. The treated adults were evaluated 24 and 48 hour after the spraying to determine the lethal effect. The results showed that the Bordeaux mixture and the mix (“garrafada”) did not present significant toxicity to *E. connexa*. There is no lethal effect by topic application of the all tested products, in the pupa stage and in the adults of this species.

Keywords: Aphidophagous ladybeetle, selectivity of alternative phytoprotectors

Introdução

A modernização da agricultura, por meio do pacote tecnológico adotado a partir da II Guerra Mundial, levou à adoção de práticas, como a

simplificação dos agroecossistemas utilizando metodologias de produção baseados na monocultura, sobreposição de ciclos culturais, mecanização intensiva, irrigações pesadas, adubações muitas vezes excessivas, sendo estas

realizadas especialmente através do uso de fertilizantes altamente solúveis e uso indiscriminado e massivo de agrotóxicos, portanto com alto aporte e dependência de insumos externos de alto custo. Embora essas práticas agrícolas tenham impulsionado a produção mundial de alimentos para patamares nunca antes alcançados, ainda nos anos 60, efeitos negativos da adoção dessas práticas, tais como erosão, contaminação dos solos e mananciais, perda da diversidade da fauna e flora, ressurgimento de pragas e resistência destas aos agrotóxicos, começaram a ser percebidos (AGUIAR-MENEZES, 2003).

O grande desafio da agricultura no século XXI é, portanto, manter a produtividade dos cultivos e ao mesmo tempo melhorar a qualidade biológica (valor nutritivo), sanidade dos alimentos (ausência de resíduos tóxicos) e conservação dos recursos naturais de produção (solo, água, ar e organismos) para as gerações futuras (AGUIAR-MENEZES, 2003), além de proteger a saúde do agricultor e da sua família, que estão diretamente ligados ao campo e a aplicação desses produtos.

Buscando métodos de controle que sejam eficientes e, ao mesmo tempo, sigam os pressupostos do desafio anteriormente citado para a agricultura, o controle biológico de pragas tornou-se uma ferramenta fundamental no manejo de pragas agrícolas por ser de custo relativamente mais baixo e de menor risco à saúde humana e ao meio ambiente. Todavia, de acordo com AGUIAR-MENEZES (2003), nem sempre o controle biológico utilizado isoladamente é suficiente para reduzir a densidade populacional das pragas abaixo do nível de dano econômico, sendo às vezes, necessário associá-lo a outras medidas de controle.

Diversos são os métodos que podem ser utilizados para o controle pragas. O método de controle tradicionalmente aplicado em monocultivos recebe, desde sua implementação, críticas embasadas principalmente pela utilização de inseticidas sintéticos sem controle e falta de informações de efeitos dos mesmos à longo prazo. De acordo com LIMA (2013), dados da Organização Mundial da Saúde associados à média de DL₅₀ oral aguda (mg/kg), apontam que, mesmo com as medidas das empresas em diminuir as doses utilizadas de inseticidas, há um claro aumento da toxicidade desses produtos ao longo do tempo, desde a década de 60 até os dias atuais. Por estes e outros aspectos, cada vez mais há o aumento no interesse por inseticidas botânicos.

Os defensivos alternativos, como os inseticidas botânicos, são produtos obtidos a partir de extratos vegetais e seu uso já foi descrito na Índia, por volta de 2.000 a.c. como método de controle de pragas. No Egito durante a época dos Faraós e na China, por volta dos anos de 1200 a.c., inseticidas derivados de plantas já eram utilizados para o controle de pragas de grãos armazenados, aplicados diretamente nos grãos ou por fumigação. Já no século XVI, os europeus faziam uso de diversas plantas para efetuarem o controle de

pragas. Entretanto, após a 2ª Guerra Mundial, com o advento dos inseticidas organossintéticos, o uso de inseticidas botânicos foi amplamente reduzido (MOREIRA et al., 2006). Já a calda bordalesa, utilizada pela primeira vez por volta de 1882, em Bourdeaux, na França, como fungicida para controlar o míldio em videira (EMBRAPA, 2008), é utilizada até os dias atuais no controle de doenças fúngicas de várias culturas. Baixo custo, pequena toxicidade ao homem e animais são algumas de suas vantagens (FERREIRA, 2012).

Mesmo havendo limitações quanto ao seu uso apropriado e também o desconhecimento sobre seus efeitos na fauna benéfica do agroecossistema, os defensivos alternativos podem ser de grande importância no controle de pragas, já que o que se busca é uma melhor visão ecológica do sistema agrícola, nascendo assim técnicas mais adequadas e sustentáveis no manejo integrado de pragas (VENDRAMIM & CASTIGLIONI, 2000).

É importante salientar que a ação dos defensivos alternativos sobre os insetos é variável, podendo se caracterizar como uma substância tóxica, repelente, geradora de esterilidade, alterando o comportamento, o desenvolvimento ou até reduzir a alimentação dos insetos benéficos (ARNASON et al., 1990).

Para que este tipo de controle continue sendo propagado em programas de manejo integrado de pragas de forma ampla (ROEL et al., 2000), é necessário e inevitável que sejam desenvolvidos estudos capazes de adquirir e avaliar novos compostos bioativos, além da realização de testes de toxicidade destes produtos aos inimigos naturais (RIBEIRO et al., 2009).

Nesse aspecto, o presente trabalho objetivou avaliar em laboratório a seletividade de quatro produtos de origem botânica (extrato de alho, extrato de citronela, extrato de fumo, extrato de pimenta) e a mistura desses quatro produtos ("garrafada"), dissolvidos em água destilada na concentração de 8%, e de calda bordalesa, dissolvida em água destilada na concentração de 1%, comumente utilizados na agricultura orgânica à *Eriopsis connexa*, sendo todos aplicados topicamente.

Métodos

Aquisição e Escolha da Espécie de Coccinellidae

Adultos de coccinélidos foram coletados na área do Sistema Integrado de Produção Agroecológica (SIPA – "Fazendinha Agroecológica km 47"). Estes insetos foram levados para o Centro Integrado do Manejo de Pragas (CIMP), localizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro em Seropédica - RJ.

A espécie *Eriopsis connexa* (Germar, 1824) (Coleoptera: Coccinellidae) foi escolhida para a realização dos testes por apresentar como característica ser boa predadora de pragas e também por estar apta à criação em laboratório (LIXA, 2008), sendo facilmente alimentada por nutrição artificial com ovos de *Anagasta kuehniella*

(Zeller, 1879) (Lepdoptera: Pyralidae) e larvas vivas de *Drosophila melanogaster* (Meigen, 1830) (Diptera: Drosophilidae).

Criação de Eriopsis connexa em Laboratório

Os indivíduos coletados no campo foram transferidos para potes plásticos, cada um com capacidade de um litro. No pote foram colocados seis adultos de *E. connexa* para formação de casais e fechados com tampas perfuradas ou revestidas com organza. Os indivíduos permaneceram em ambiente controlado, com temperatura, umidade relativa e fotoperíodo, respectivamente $25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%\text{UR}$ e fotofase de 12 horas, passando por uma quarentena (40 dias), tempo esse estipulado pelo laboratório, para a eliminação de qualquer possibilidade de contaminação da matriz. Após este período foram coletadas posturas e, após a eclosão, estes indivíduos, foram separados em frascos de vidro de 20 mL, nos quais permaneceram até a emergência do inseto adulto. Posteriormente, os indivíduos foram inseridos na criação da matriz para posterior coleta de novas posturas e início do experimento em outro ambiente com o mesmo controle do local.

Os insetos adultos foram alimentados com ovos de *A. kuehniella*, larvas de *D. melanogaster* fornecidas vivas em tampas plásticas e água em algodão hidrófilo umedecido com água filtrada, colocada em tampas de plástico de refrigerante. Os ovos de *A. kuehniella* foram adquiridos em empresa especializada, neste caso, Insecta Agentes de Controle Biológico, Lavras-MG (Figura 3). Os ovos foram armazenados em freezer doméstico e durante o experimento, aproximadamente 6g de ovos eram retirados por vez do congelador para manutenção da matriz.

A obtenção das larvas de mosca *D. melanogaster* foi realizada através da criação em laboratório no CIMP, mediante o uso de três gaiolas grandes e 2 pequenas, mantidas em ambiente climatizado, ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%\text{UR}$, 24 horas de luz direta diária) (Figura 4) e infestadas com adultos da mosca *D. melanogaster*. Estes dípteros foram alimentados *ad libitum* com dieta artificial adaptada à base de banana d'água, mel, fermento biológico e farinha de aveia, com gotas de violeta de genciana como agente antisséptico, baseando-se na metodologia descrita em AQUARIOLAND (2012). Este meio de cultura, após preparação, apresenta um rendimento médio de 18 copos descartáveis, de 200 mL, que são alocados nas gaiolas de criação.

Durante a criação de *E. connexa*, realizou-se observações diárias para retiradas das novas posturas (Figura 6), garantindo que estas fossem separadas o mais rápido possível e os adultos transferidos para potes vazios e mantidos na matriz. Vistorias diárias eram realizadas para definir o dia exato da eclosão das larvas. As larvas de primeiro instar, quando manuseadas no primeiro dia de eclosão, apresentam uma alta taxa de mortalidade (MACHADO, 1982), portanto, a individualização das larvas foi realizada no segundo dia após a eclosão.

As larvas eram transferidas para frascos de vidro de 20 mL, tampados com algodão hidrófilo e mantidas em ambiente climatizado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%\text{UR}$ e fotofase de 12 horas). Este mecanismo de individualização foi adotado, pois, além de apresentar alta taxa de mortalidade quando as larvas eram manuseadas logo após sua eclosão, a família da qual esta espécie pertence apresenta comportamento de canibalismo (ALMEIDA & RIBEIRO-COSTA, 2009). As larvas permaneceram nestes recipientes até a fase adulta, obtendo-se a matriz de *E. connexa*.

Para diminuir a ocorrência de endogamia e perda de vigor na criação, eventualmente adultos novos de vida livre eram inseridos na matriz (após a quarentena), além da realização de rodízio entre os indivíduos de potes diferentes com um intervalo de 10 dias.

Método para Aplicação dos Defensivos Alternativos

As aplicações dos defensivos fitossanitários foram realizadas com o auxílio de pulverizador manual com capacidade para 600 mL, segundo metodologia criada pela IOBC (International Organization for Biological Control of Noxious Animal and Plant's) (HASSAN, 1997).

Foram aplicados três jatos dos produtos testados, com uma distância de aproximadamente 40 centímetros dos potes, em intervalos de aproximadamente um segundo entre os jatos.

As larvas de 2^o, 3^o, 4^o instar e insetos adultos foram colocados em potes semelhantes aos insetos da matriz durante a aplicação dos produtos e, para cada tratamento, utilizou-se potes diferentes, devidamente limpos e secos. Os indivíduos de cada fase foram colocados aleatoriamente nos potes e, após a aplicação do produto em teste, eram aleatoriamente separados em frascos de vidro. Para cada produto realizou-se 5 repetições de aplicação, com 10 indivíduos por repetição, finalizando com um total de 50 indivíduos/frascos.

Para a aplicação do produto teste, as posturas eram retiradas da matriz e a pulverização realizada em massas de 10 ovos, nos próprios potes onde os indivíduos permaneciam na matriz. Caso a massa apresentasse mais de 10 ovos, o produto era aplicado na massa total e, posteriormente, padronizava a quantidade de ovos.

Para os testes realizados nas larvas de 1^o instar, retiravam-se os ovos da matriz em seus potes originais de postura, aguardando a eclosão dos mesmos para no dia seguinte realizar a aplicação do produto teste. Após a aplicação do produto, as larvas eram individualizadas aleatoriamente em frascos de 20mL. Cada grupo de 10 indivíduos era numerado e separado por repetição em potes identificados.

Nas fases de pré-pura e pupa, as posturas eram retiradas da matriz e, após a eclosão, individualizadas em frascos de vidro de 20mL e monitoradas até a fase de 4^o instar, quando estas eram transferidas, com o auxílio de pincel com cerdas macias, para potes plásticos com

capacidade de 100ml e tampas com furos. A aplicação dos produtos foi realizada diretamente nestes potes para não causar danos aos indivíduos.

Em todas as fases o transporte dos indivíduos dos potes para os frascos foi realizado de forma cautelosa, com o auxílio de pincéis com cerdas macias e, após a realização do procedimento, continuavam sendo alimentadas com a dieta de ovos de *A. kuehniella* e larvas de *D. melanogaster*, e os adultos recebiam água em algodão hidrófilo umedecido com água filtrada em tampas de refrigerante.

Descrição do Experimento

Para avaliar o efeito dos produtos sobre *E. connexa*, o experimento foi inicialmente conduzido numa população de adultos da matriz, mantida em ambiente climatizado com condicionador de ar ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR) e fotofase de 12 horas ajustada com timer (temporizador), no Laboratório do Centro Integrado de Manejo de Pragas (CIMP), localizado na Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, na cidade de Seropédica-RJ.

As aplicações consistiram na pulverização de quatro produtos de origem botânica (extrato de alho, extrato de citronela, extrato de fumo, extrato de pimenta e a mistura dos 4 produtos, caracterizado como “garrafada”), dissolvidos em água destilada em níveis de concentração de 8%. Esta concentração foi utilizada com base na recomendação, com exceção da calda bordalesa, que possui como concentração recomendada para uso no campo de 1%. Os ingredientes da calda foram obtidos no Centro Estadual de Pesquisa em Agricultura Orgânica (CEPAO)/Pesagro-Rio (Seropédica, RJ) e a solução preparada no CIMP. No grupo controle houve a pulverização de água destilada.

Realizou-se a comparação entre os tratamentos pelo contraste de Tukey, além de utilizar uma medida estatística denominada Odds Ratio (Razão de chances), que indica o número de vezes que a probabilidade de sucesso de um tratamento ser maior que outro tratamento de referência, para comparar os efeitos de tratamentos em relação ao tratamento de referência.

Fase de ovo

Após a oviposição das fêmeas da população matriz de *E. connexa*, foram selecionadas massas de ovos que apresentavam boa aparência, levando em consideração a coloração e formato dos ovos da postura. Para evitar danos a massa de ovos, as mesmas permaneceram no recipiente de postura, removendo os adultos e encaminhando-os para um novo pote.

Cada tratamento consistiu na aplicação em cinco massas de ovos (com 10 ovos cada uma). Em cada tratamento observou-se a viabilidade dos ovos pela porcentagem de eclosão de larvas por massa de ovos. Os ovos tratados foram mantidos em ambiente controlado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas) durante todo o experimento.

Fases larvais, pré-pupa e pupa

Cada repetição foi formada por dez (10) larvas, sendo cada uma individualizada em frascos de vidro de 20 mL, fechados com algodão hidrófilo. Estas larvas foram adquiridas a partir das fêmeas da matriz da criação de *E. connexa* do CIMP e alimentadas por ovos de *A. kuehniella* e larvas de *D. melanogaster*. As larvas tratadas foram mantidas em ambiente controlado ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas) durante todo o experimento.

Nas três fases em questão, também foi avaliada a viabilidade das fases, através da porcentagem de indivíduos que passaram de uma fase de desenvolvimento para outra, buscando a determinação do efeito letal do produto testado.

Fase adulta

Foram realizadas parcelas de 10 grupos com cinco indivíduos cada, selecionados de forma aleatória, introduzidos em potes plásticos com capacidade de um litro fechados com tampas perfuradas e mantidos em sala climatizada ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas).

Os adultos recém-emergidos (1-2 dias) utilizados no experimento foram obtidos de posturas da população da matriz de *E. connexa* criadas no laboratório do CIMP, alimentadas com ovos de *A. kuehniella* e larvas de *D. melanogaster*.

As pulverizações dos tratamentos foram realizadas sobre os adultos em recipientes separados antes de serem colocados em seus potes definitivos e avaliados por 48 horas.

Resultados e discussão

Não houve indivíduos mortos quando os ovos de *Eriopsis connexa* foram tratados com água destilada (100% de eclosão das larvas), e apenas um indivíduo morreu com a aplicação tópica da calda bordalesa (98% de eclosão) (Tabela 1).

Como para realizar análise estatística, pressupõe-se variabilidade dos dados e no caso do tratamento com água destilada não houve variabilidade e o mesmo ocorreu com a calda bordalesa, pois a variabilidade é praticamente nula. Esses dois tratamentos foram desconsiderados da análise para que não houvesse um efeito indesejado para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados, eles foram classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

A aplicação tópica da mistura dos extratos e extrato de pimenta apresentou uma superioridade com o número de ovos com larvas eclodidas, quando comparados aos dos tratamentos com alho e citronela, ambos na concentração a 8%. Indicando que os extratos de alho e citronela reduziram a taxa de eclosão dos ovos e, portanto, exibindo um potencial ovicida.

O extrato de fumo foi escolhido como tratamento de referência porque é o único que

apresenta letras em comum aos dois grupos estatísticos definidos na análise. O extrato de fumo (74% de eclosão das larvas) não diferiu significativamente dos outros extratos. Utilizando a medida estatística Odds Ratio (razão de chances) e o extrato de fumo como tratamento referência, há uma razão de 3,16 vezes de chance de sobrevivência das larvas nos ovos tratados de *E. connexa* com a mistura de extratos. Essa medida foi

significativamente maior (teste de Wald a 5%) do que a de fumo (1,00x), que não diferiu significativamente dos outros tratamentos. A mistura dos extratos e o extrato de pimenta foram menos tóxicos (90% e 80% de eclosão das larvas, respectivamente), diferindo significativamente de citronela e alho (68% e 66% de eclosão das larvas, respectivamente).

Tabela 1. Número médio de ovos de *Eriopis connexa* tratados com calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura, em que ocorreu a eclosão de larva em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 ovos/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	9,8	---	----
Mistura de extratos 8% ¹	9,0 a	3,16	0,044*
Pimenta 8%	8,0 a	1,41	0,477
Fumo 8%	7,4 ab	1,00	----
Citronela 8%	6,8 b	0,75	0,509
Alho 8%	6,6 b	0,68	0,384

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Sausen et al. (2007) observaram que eclosão das larvas de *E. connexa* não foi afetada com o contato de extrato aquoso de pó de fumo (*Nicotiana tabacum* L.), nas concentrações de 5% e 10% (v/v), sobre os ovos dessa joaninha. Já nos dados expostos, observou-se que o extrato de fumo (*Nicotiana tabacum* L.) à 8%, pelo contraste de Tukey à 5%, demonstrou ser uma interseção entre os resultados encontrados.

Igualmente ao que ocorreu na fase de ovos, não houve indivíduos mortos no 1º instar larval quando se utilizou o tratamento com água destilada, e apenas um indivíduo morto com o tratamento com

o extrato de fumo, até a conclusão do 1º instar larval, quando detectava a presença de exúvias (Tabela 2).

A água destilada e o extrato de fumo foram desconsiderados da análise, pela mesma razão apresentada na fase de ovo para os tratamentos: água destilada e calda bordalesa. Sendo assim, para que não houvesse um efeito indesejado para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados, eles foram classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

Tabela 2. Número médio de larvas sobreviventes de primeiro instar de *Eriopis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 larvas 1º instar/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Fumo 8%	9,8	---	----
Calda bordalesa 1%	9,6 a	1,00	----
Alho 8%	9,2 ab	0,48	0,409
Mistura de extratos 8% ¹	8,6 ab	0,26	0,100
Pimenta 8%	8,4 ab	0,22	0,063
Citronela 8%	7,8 b	0,15	0,017*

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Determinou-se que a calda bordalesa, escolhida ao acaso, possui o teste de comparação igual a 1 ou 100%, desta forma, este tratamento apresentou ser superior ao tratamento com extrato de citronela, quando comparado com a medida estatística Odds Ratio (Razão de chances). Quando

somente o extrato de citronela foi aplicado, este apresentou uma razão de chance de sobrevivência em relação à calda bordalesa de 15%. Obtendo o extrato de citronela, pelo contraste de Tukey, uma significância entre os demais produtos testados.

Não foram observados indivíduos mortos nos tratamentos com água destilada e com o extrato de pimenta malagueta, até a conclusão do 2º instar larval (Tabela 3). Por não apresentar variabilidade, os tratamentos: água destilada e extrato de pimenta foram desconsiderados para a análise, buscando um resultado mais fidedigno para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados, estes foram

classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

Pressupondo a calda bordalesa como tratamento de referência, observou-se pela razão de chance e pelo teste de Wald à 5% que não diferenciou significativamente dos extratos de citronela, fumo, alho e a mistura dos extratos.

Tabela 3. Número de larvas sobreviventes de segundo instar de *Eriopsis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 larvas 2º instar/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Pimenta 8%	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	9,6 a	1,00	----
Citronela 8%	9,6 a	1,00	----
Fumo 8%	9,4 a	0,65	0,648
Alho 8%	9,4 a	0,65	0,648
Mistura de extratos 8% ¹	9,4 a	0,65	0,648

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

No tratamento testemunha (água destilada) não foram observados indivíduos mortos ao final do experimento, bem como no tratamento com a calda bordalesa, e apenas um indivíduo morto com a aplicação tópica de extrato de pimenta, até a conclusão do 3º instar larval (Tabela 4). Por não apresentar variabilidade, os tratamentos: água destilada, calda bordalesa e extrato de pimenta foram desconsiderados para a análise, esses três tratamentos foram desconsiderados da análise para que não houvesse um efeito indesejado para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados, eles foram classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

Pressupondo o extrato de fumo, como tratamento de referência, observou-se pela razão de chance e pelo teste de Wald à 5% que não diferenciou significativamente dos extratos de citronela, alho e a mistura dos extratos.

Não foram observados indivíduos mortos quando da utilização do tratamento com água destilada e com extrato de pimenta, e apenas um indivíduo morto com o tratamento com calda bordalesa e extrato de alho, até a conclusão do 4º instar larval, quando detectava a presença de exúvias. Por não apresentar variabilidade, os tratamentos: água destilada, extrato de pimenta, calda bordalesa e extrato de alho, foram desconsiderados para a análise, esses quatro tratamentos foram desconsiderados da análise para que não houvesse um efeito indesejado para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados,

eles foram classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

Observa-se que os tratamentos com a calda bordalesa, extrato de pimenta e alho foram superiores ao tratamento com o extrato de citronela, fumo e mistura de extratos. Pressupondo o extrato de fumo como tratamento de referência, observou-se pela razão de chance e pelo teste de Wald à 5% que não houve diferença do extrato de citronela e a mistura dos extratos.

Não foram observados indivíduos mortos quando da utilização do tratamento com água destilada e extrato de pimenta, e apenas um indivíduo morto com o tratamento com calda bordalesa, até a conclusão da fase de pré-pupa, com o aparecimento das primeiras pupas. Para realizar análise estatística, pressupõe-se variabilidade dos dados e no caso do tratamento com água destilada e extrato de pimenta não houve variabilidade e o mesmo ocorreu com a calda bordalesa, pois a variabilidade é praticamente nula (a morte do inseto pode ter ocorrido pelo acaso e não necessariamente pelo efeito da calda bordalesa), esses três tratamentos foram desconsiderados da análise para que não houvesse um efeito indesejado para a estimação dos efeitos dos outros tratamentos. Uma vez que esses tratamentos foram desconsiderados, eles foram classificados como os melhores tratamentos e os demais foram comparados entre si utilizando o contraste de Tukey ao nível de 5%.

Observa-se que os tratamentos com o extrato de pimenta e a calda bordalesa foram superiores quando comparado com os demais

tratamentos. Pressupondo o extrato de fumo como tratamento de referência, observou-se pela razão de chance e pelo teste de Wald à 5% que não

diferenciou significativamente dos extrato de citronela, alho e a mistura dos extratos.

Tabela 4. Número de larvas sobreviventes de terceiro ínstar de *Eriopis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 larvas 3^o instar/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	10,0	---	----
Pimenta 8%	9,8	---	----
Fumo 8%	9,6 a	1,00	----
Alho 8%	9,6 a	1,00	----
Mistura de extratos 8% ¹	9,2 a	0,48	0,409
Citronela 8%	9,0 a	0,38	0,255

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Tabela 5. Número de larvas sobreviventes de quarto ínstar de *Eriopis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 larvas 4^o instar/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Pimenta 8%	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	9,8	---	----
Alho 8%	9,8	---	----
Fumo 8%	9,6 a	1,00	----
Citronela 8%	9,6 a	1,00	----
Mistura de extratos 8% ¹	9,6 a	1,00	----

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Tabela 6. Número de pré-pupas sobreviventes de *Eriopis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 pré-pupas/repetição).

Tratamento	Média	Odd Ratio	P(Wald's test)
Água destilada	10,0	---	----
Pimenta 8%	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	9,8	---	----
Alho 8%	9,6 a	1,53	0,648
Mistura de extratos 8% ¹	9,6 a	1,53	0,648
Fumo 8%	9,4 a	1,00	----
Citronela 8%	9,4 a	1,00	----

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Não foram observados indivíduos mortos na fase de pupa em todos os tratamentos testados ao final do experimento, incluindo a testemunha, até a conclusão da fase de pupa, quando emergiram os primeiros adultos (Tabela 7).

Dessa forma não houve possibilidade de comparação entre si utilizando a razão de chance, contraste de Tukey ao nível de 5% e teste de Wald à 5%. Caracterizando que, em laboratório, à aplicação dos produtos nessas concentrações, não há dano na fase de pupa desse inimigo natural.

Ao final do experimento, analisando os dados obtidos, não foram observados indivíduos mortos quando dos tratamentos testados e também no tratamento controle depois de 24h e 48h após aplicação desses produtos (Tabela 8).

Dessa forma não houve possibilidade de comparação entre os grupos a partir da utilização a razão de chance, contraste de Tukey ao nível de 5% e teste de Wald à 5%.

A ausência de mortalidade dos adultos nos tratamentos pode ser explicada pela impermeabilidade do tegumento, principalmente na região dorsal, que é protegida pelos élitros que são rígidos e espessos (SILVA & MARTINEZ, 2004).

Todavia, no tratamento realizado com calda bordalesa houve a observação de um possível efeito de tigmotactismo (sensibilidade ao toque), no qual o inseto paralisa ao entrar em contato com o produto devido ao alto peso molecular. Quando a calda bordalesa era aplicada, foi possível observar uma paralisia dos insetos, muitas vezes confundida com efeito letal e que, após a total evaporação do produto, estes insetos voltavam a movimentar-se normalmente, indicando que esse predador pode ser mais resistente em campo após a aplicação do produto. Nos outros extratos botânicos e na mistura dos extratos, os insetos não apresentaram tal comportamento.

Tabela 7. Número de pupas sobreviventes de *Eriopis connexa* após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 pupas/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ²
Água destilada	10,0	---	----
Pimenta 8%	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	10,0	---	----
Alho 8%	10,0	---	----
Mistura de extratos 8% ¹	10,0	---	----
Fumo 8%	10,0	---	----
Citronela 8%	10,0	---	----

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Tabela 8. Número de adultos sobreviventes de *Eriopis connexa* em 24h e 48h após aplicação de calda bordalesa ou extratos botânicos isoladamente ou em mistura em laboratório ($25 \pm 1^\circ\text{C}$, $70 \pm 10\%$ UR e fotofase de 12 horas). (N = 50, sendo 10 adultos/repetição).

Tratamento	Média ²	Odd Ratio	P(Wald's test) ³
Água destilada	10,0	---	----
Pimenta 8%	10,0	---	----
Calda bordalesa 1%	10,0	---	----
Alho 8%	10,0	---	----
Mistura de extratos 8% ¹	10,0	---	----
Fumo 8%	10,0	---	----
Citronela 8%	10,0	---	----

¹Mistura de extratos = extrato de fumo + pimenta + citronela + alho a 8%. ²Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo contraste de Tukey a um nível de significância de 5%. ³ = * Significativo a 5% pelo teste de Wald.

Conclusões

A aplicação tópica de todos os produtos (mistura dos extratos botânicos composta por alho (*Allium sativum* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), citronela (*Cymbopogon* sp.) e pimenta malagueta (*Capsicum frutescens* L.) ("garrafada"); extrato de alho; extrato de citronela; extrato de fumo; extrato de pimenta, todos a concentração de 8%; e calda bordalesa em concentração de 1%), não apresentaram efeito letal sobre as fases de pupa e

adultos de *E. connexa*, em condições ambientais controlada de laboratório.

Reitera-se o efeito fungida e não inseticida da calda bordalesa pela aplicação tópica do produto à 1% sem efeito ovicida sobre *E. connexa* em condições ambientais controladas em laboratório.

A calda bordalesa a 1% e a mistura dos extratos botânicos composta por alho (*Allium sativum* L.), fumo (*Nicotiana tabacum* L.), citronela (*Cymbopogon* sp.) e pimenta malagueta (*Capsicum*

frutescens L.) (“garrafada”), na concentração de 8%, não causaram, em testes de laboratório, toxicidade significativa às fases larvais, pré-pupa, pupa e adultos de *Eriopsis connexa*.

Referências

- AGUIAR-MENEZES, E.L. Controle biológico de pragas: princípios e estratégias de aplicação em ecossistemas agrícolas. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2003. 44 p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 164).
- AGUIAR-MENEZES, E.L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. Seropédica: Embrapa Agrobiologia, 2005. 58p. (Embrapa Agrobiologia. Documentos, 205).
- ALMEIDA, L. M.; RIBEIRO-COSTA, C. S. Coleópteros predadores (Coccinellidae). In: PANIZZI, A. R.; PARRA, J. R.P. (eds.). Bioecologia e nutrição de insetos; base para o manejo integrado de pragas. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2009. p. 931-968.
- AQUARIOLAND. Disponível em: <<http://aquarioland2000.tripod.com/drosophila.htm>> Acesso em: 10 out. 2014.
- ARNASON, J.T.; PHILOGÈNE, B.J.R.; MORAND, P. Insecticide of plant origin. Washington, DC: American Chemical Society, 1990. 214p.
- BUENO, V.H.P.; BERTI FILHO, E. Controle biológico de insetos com predadores. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, v.15, n.167, p.41-52, 1991.
- COSTA, E.L.N.; SILVA, R.F.P.; FIUZA, L.M. Efeitos, aplicações e limitações de extratos de plantas inseticidas. Acta Biologica Leopoldensia, v.26, n.2, jul-dez, p.173-185, 2004.
- COSTA LIMA, A. Família Coccinellidae. In: COSTA LIMA, A. Insetos do Brasil. Rio de Janeiro: Escola Nacional de Agronomia, Série didática n.10, 8º Tomo, Coleópteros, 2ª Parte, 1953. p.283-303.
- EMBRAPA. Calda Bordalesa: utilidades e preparo. Dourados - MS, 2008. Disponível em: <<http://www.cpao.embrapa.br/publicacoes/online/zip/FOL200837.pdf>> Acessado em: 25/08/2014.
- EMBRAPA AGROBIOLOGIA. Cultivo do café orgânico: controle alternativo das pragas e doenças. Versão Eletrônica. Janeiro de 2006. Disponível em: <<http://www.cnpab.embrapa.br/publicacoes/sistema/sdeproducao/cafe/doencas.htm>> Acessado em: 25/08/2014.
- FERREIRA, S.G.M. Desenvolvimento e fitossanidade de videiras e ameixeiras tratadas com silício em sistema orgânico. 56p. 2012. Tese (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava, PR.
- FLINT, M. L.; VAN DEN BOSCH, R. Introduction to integrated pest management. New York: Plenum, 1981. 240 p.
- GALLO, D.; NAKANO, O.; SILVEIRA NETO, S.; CARVALHO, R.P.L.; BAPTISTA, G.C.; BERTI FILHO, E.; PARRA, J.R.P.; ZUCCHI, R.A.; ALVES, S.B.; VENDRAMIM, J.D.; MARCHINI, L.C; LOPES, J.R.S.; OMOTO, C. Entomologia agrícola. Piracicaba: FEALQ, 2002. 920p.
- KATHRINA, G.A.; ANTONIO, L.O.J. Controle biológico de insectos mediante extractos botânicos. In: CARBALL, M.; GUAHARAY, F. (eds.). Control biologico de plagas agrícolas. Managua: CATIE, 2004. p.137-160. (Serie Técnica. Manual Técnico/CATIE, 53).
- LORENZI, H. Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas. 2 ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2008. 576p.
- LIMA, L.C.S.F. A evolução dos produtos fitossanitários e seu uso no Brasil. Coleção ANDEF Ciência. São Paulo: ANDEF, 1 ed., v.2, 2013, 73p.
- LIXA, A.T. Coccinellidae (Coleoptera) usando plantas aromáticas como sítio de sobrevivência e reprodução em sistema agroecológico, e aspectos biológicos em condições de laboratório. 77p. 2008. Tese (Mestrado em Fitossanidade e Biotecnologia Aplicada) – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, RJ.
- MAMPRIM, A.P. Efeitos de defensivos agrícolas naturais e extratos vegetais sobre parâmetros biológicos de *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. 2011, 78p. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Marechal Cândido Rondon, PR.
- MATSUMURA, F. Naturally occurring botanical insecticides. In: MATSUMURA, F. Toxicology of insecticides. London: Plenum, p. 134-139, 1976.
- MOREIRA, M.D.; PICANÇO, M.C.; SILVA, M.E.; MORENO, S.C.; MARTINS, J.C. Uso de inseticidas botânicos no controle de pragas. In: VENZON, M.; PAULA JÚNIOR, T.J.; PALLINI, A. (eds.). Controle alternativo de pragas e doenças. Viçosa: Epamig/CTZM, 2006. p.89-120.
- OLIVEIRA, J.M. Potencial de extratos vegetais no controle de *Polyphagotarsonemus latus*, *Tetranychus urticae* e *Myzus persicae*. 2013. 57p. Dissertação (Mestrado em Entomologia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

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

ROEL, A.R.; VENDRAMIM, J.D.; FRIGHETTO, R.T.S.; FRIGHETTO, N. Atividade tóxica de extratos orgânicos de *Trichilia pallida* Swartz (Meliaceae) sobre *Spodoptera frugiperda* (J. E. Smith). Anais da Sociedade Entomológica do Brasil, v.29, p.799-808, 2000.

SAUSEN, C. D.; RIBEIRO, L.P.; FERREIRA, F.; RIGO, D.S.; CÂMERA, C.; STURZA, V.; SOARES, D.S.B. Ação de plantas inseticidas sobre oviposição e eclosão de larvas de *Eriopsis connexa* (Col.: Coccinellidae). Revista Brasileira de Agroecologia, out., v.2, n.2, p.1247-1250, 2007.

SILVA, F.A.C.; MARTINEZ, S.S. Effect of neem seed oil aqueous solutions on survival and development of the predator *Cycloneda sanguinea* (L.) (Coleoptera: Coccinellidae). Neotropical Entomology, v.33, n.6, p.751-757, 2004.

VENDRAMIM, J.D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (eds.). Bases e técnicas do manejo de insetos. Santa Maria: UFSM/CCR/DFS; Pallotti, 2000. p. 113-128.

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