

Notas Científicas

Toxicidade de extratos de nim (*Azadirachta indica*) ao ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis*

Sheila Abreu Mourão⁽¹⁾, José Cola Zanuncio⁽²⁾, Angelo Pallini Filho⁽²⁾, Raul Narciso Carvalho Guedes⁽²⁾
e Adonai Bruneli de Camargos⁽¹⁾

⁽¹⁾Universidade Federal de Viçosa (UFV), Dep. de Fitotecnia, CEP 36571-000 Viçosa, MG. E-mail: samourao@alunos.ufv.br ⁽²⁾UFV, Dep. de Biologia Animal, Entomologia. E-mail: zanuncio@ufv.br, pallini@ufv.br, guedes@ufv.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi estudar a toxicidade aguda e crônica de extratos de óleo de torta, de sementes e de folhas de *Azadirachta indica* A. Juss (nim) a fêmeas do ácaro-vermelho-do-cafeeiro *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). A mortalidade e a taxa instantânea de crescimento populacional de fêmeas adultas desse ácaro foram avaliadas em discos de folhas de café com 3,5 cm de diâmetro, impregnados com resíduo seco dos extratos de nim e flutuando em água. As concentrações dos extratos de óleo de torta, sementes e folhas de nim que mataram 50% e 99% dos indivíduos de *O. ilicis*, após 72 horas de exposição, foram de 0,02, 15,9 e 121,4 mg/mL e de 10,9, 520,9 e 277,4 mg/mL, respectivamente. A taxa instantânea de crescimento populacional de *O. ilicis* diminuiu, linearmente, com o aumento da concentração dos extratos de óleo de torta, sementes e folhas de nim até 0,075, 15 e 144 mg/mL, respectivamente, a partir das quais as populações desse ácaro foram extintas.

Termos para indexação: pesticida natural, praga do café, inseticida botânico.

Toxicity of neem extracts (*Azadirachta indica*) to the coffee red mite *Oligonychus ilicis*

Abstract – The objective of this work was to study the toxicity of extracts of oil cake, seeds and leaves of *Azadirachta indica* A. Juss (neem) to the coffee red mite *Oligonychus ilicis* (McGregor) (Acari: Tetranychidae). Concentration-mortality and instantaneous rate of populational growth were determined for adult females of the red mite on disks of coffee with 3.5 cm diameter, floating on water and impregnated with dry residues of the neem extracts. Concentrations of these extracts which caused 50% mortality of the individuals of *O. ilicis* were 0.02, 15.9 and 121.4 mg/mL; while 99% mortality of this mite was reached with 10.9, 520.9 and 277.4 mg/mL for oil cake, seeds and leaves extracts, respectively. The instantaneous rate of populational growth of *O. ilicis* dropped as the extract doses increased up to 0.075, 15 and 144 mg/mL for oil cake, seeds and leaves extracts, respectively.

Index terms: natural pesticide, coffee pest, plant insecticide.

Extratos e óleos de plantas com potencial inseticida representam uma alternativa de controle de pragas, especialmente quando agroquímicos sintéticos não são permitidos, como em cultivos orgânicos. O nim (*Azadirachta indica* A. Juss), árvore oriunda da Índia e conhecida há mais de 5.000 anos, apresenta atividade contra 430 espécies de pragas (Martínez, 2002).

O objetivo deste trabalho foi estudar a toxicidade aguda e crônica de extratos de óleo de torta, sementes e folhas de nim a fêmeas do ácaro-praga do café

Oligonychus ilicis (McGregor) (Acari: Tetranychidae).

Foram realizados bioensaios de concentração-mortalidade com fêmeas adultas de *O. ilicis* coletadas em um cafezal (*Coffea arabica* L. cv. Catuaí) isento de pesticidas, no Campus da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. Esse ácaro fitófago foi criado, separadamente, em gaiolas (10x50x90 cm), confeccionadas com armação de madeira e organza, para isolar as colônias e evitar a contaminação por outros artrópodes, em mudas de café da cultivar Catuaí Vermelho (80–90 cm de altura).

Extratos foram preparados, em laboratório, a partir de sementes maceradas, folhas trituradas e torta (resíduo seco e moído de sementes, obtido após extração do óleo) de nim em solução alcoólica. Cento e vinte gramas de folhas de nim in natura foram pesadas, trituradas e deixadas em contato com 500 mL de solução alcoólica 44%, sob agitação magnética durante 16 horas. O mesmo procedimento foi repetido com o extrato bruto de 30 g de sementes de nim sem casca em 200 mL de solução alcoólica 44%. O terceiro extrato foi obtido com 50 g de torta de nim com 300 mL de álcool etílico absoluto, sob agitação magnética durante 16 horas. A seguir, os extratos de torta de nim rotavaporizado foram filtrados a vácuo. Foram obtidos 15,5 g de óleo bruto de coloração marrom-escuro e 410 e 205 mL de extratos concentrados de folhas e de sementes de nim, respectivamente.

A toxicidade aguda e crônica dos extratos de nim a *O. ilicis* foi estabelecida aplicando-se os extratos de nim em discos de 3,5 cm de diâmetro de folhas de café. Essas aplicações foram feitas em torre de Potter (Potter, 1952), com 2,5 mL de cada extrato aplicado sob pressão de 5 lb/pol², correspondendo a um depósito de 0,26 mL/cm². Após a pulverização, os discos foram expostos ao ambiente por uma hora para secar e colocados para flutuar em placa de Petri (20 cm de diâmetro) com água.

A toxicidade aguda e crônica foi determinada confinando-se dez fêmeas de *O. ilicis* por disco de folhas de café impregnado com diferentes concentrações dos extratos, com cinco repetições por concentração, além do controle, apenas com água e álcool. Um pequeno orifício de 4 mm foi feito no centro de cada disco para passagem de um alfinete colado no fundo da placa de Petri com cola de silicone. Dessa forma, os discos não tocavam a parede da placa, deslocando-se para cima e para baixo conforme o nível da água. As placas foram mantidas em câmara climatizada a 25±2°C, 60±10% de umidade relativa e 12 horas de fotoperíodo.

As faixas de dose-resposta de mortalidade para determinação da toxicidade aguda dos extratos de nim a fêmeas adultas de *O. ilicis* foram obtidas com testes preliminares. Extratos brutos de folhas e sementes foram diluídos até 0,1% e utilizados na fixação de faixas respostas. O extrato de torta de nim foi produzido a partir de uma solução-estoque de 1 mg/mL do óleo, diluída na proporção de 1:10 até se alcançar a menor concentração (10⁻⁶ mg/mL), com relação de 10⁶ vezes entre a maior (1 g/mL) e a menor (10⁻⁶ mg/mL). Desta forma,

foram obtidas faixas mais estreitas de resposta e estabeleceram-se as concentrações (mg/mL) de 0,01, 0,025, 0,05, 0,075, 0,10 e 0,25 de óleo de torta; 3, 23, 30, 60, 90 e 120 de sementes; e 96, 125, 130, 192 e 240 de folhas, além do controle, apenas com álcool e água. O primeiro extrato foi diluído em álcool etílico absoluto e os dois últimos em água destilada, para os bioensaios de concentração-mortalidade. Os dados de mortalidade, usados na determinação da toxicidade aguda dos extratos, foram registrados 72 horas após a montagem do ensaio e submetidos à análise de próbite para a determinação das concentrações com probabilidade de causar 50% e 99% de mortalidade (CL₅₀ e CL₉₉) de fêmeas de *O. ilicis* por extrato. Os ácaros foram considerados mortos quando não conseguiam se mover a uma distância equivalente ao comprimento de seu corpo (Stark et al., 1997).

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) foi calculada por $r_i = \ln(N_f/N_i)/Dt$, em que N_f é o número final de ácaros; N_i é o número inicial de ácaros; e Dt é a variação de tempo (sete dias) (Stark et al., 1997; Walthall & Stark, 1997), e usada na determinação da toxicidade crônica dos extratos de nim a fêmeas adultas de *O. ilicis*. Valor positivo de r_i indica crescimento populacional, $r_i = 0$ indica que a população está estável e valor negativo de r_i indica declínio da população até a extinção. Os procedimentos experimentais e os extratos foram os mesmos para se estimar a toxicidade aguda, com diferenças nas concentrações, no tempo decorrido para avaliação (sete dias) e na avaliação dos números de ovos, imaturos e adultos de *O. ilicis* em cada disco, que foram utilizados para calcular o r_i . Dez fêmeas adultas acasaladas (1–3 dias de idade) de *O. ilicis* foram utilizadas por concentração avaliada, com cinco repetições. Foram testadas as seguintes concentrações dos extratos em mg/mL: 4,8, 24, 48, 96, 115,2, 129,6, 144, 192 e 240 de folhas; 0,3, 7,5, 10, 13, 15, 22,5, 30, 60 e 90 de sementes; 0,000001, 0,00001, 0,0001, 0,001, 0,01, 0,025, 0,075, 0,1 e 1 de óleo de torta, além do controle, apenas com água e álcool.

Os extratos de óleo de torta, sementes e folhas de nim apresentaram toxicidade aguda a *O. ilicis* (CL₅₀ e CL₉₉) com probabilidade de mortalidade de 50% e 99% dos seus indivíduos, após 72 horas de exposição a concentrações de 0,02, 15,9 e 121,4 mg/mL e de 10,9, 520,9 e 277,4 mg/mL, respectivamente. As concentrações letais CL₅₀ e CL₉₉ variaram entre extratos, com maior toxicidade e inclinação da curva de concentração-mortalidade para as de óleo de torta e folhas de nim. A quantidade de ingredientes ativos, com proba-

bilidade de causar 99% de mortalidade dos indivíduos expostos, foi menor no extrato de torta de nim. Isto pode ser atribuído ao maior teor de azadiractina, considerado o mais potente dos limonóides, ou aos tetranortriterpenóides com atividade tóxica a artrópodes, pois 90% da azadiractina fica concentrada na torta de nim após prensagem das sementes (Brechelt & Fernández, 1995).

A maior inclinação da curva do extrato de folhas de nim indica que pequenas variações na concentração desse extrato podem provocar grandes mudanças na mortalidade de *O. ilicis*. Os extratos de óleo de torta e sementes de nim apresentaram o menor e o maior valor de CL_{99} para fêmeas desse ácaro-praga. Maior valor da CL_{99} indica menor toxicidade e, conseqüentemente, maior quantidade de produto para matar 99% dos indivíduos. A razão de toxicidade das CL_{99} entre o extrato de maior concentração (de sementes) e os de óleo de torta e folhas foram de 47,8 e 1,9, respectivamente.

A taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) de *O. ilicis* diminuiu com o aumento da toxicidade crônica dos extratos de nim. Houve diminuição linear das curvas dos extratos de óleo de torta, sementes e folhas até as concentrações de 0,075, 15 e 144 mg/mL, respectivamente, a partir das quais as populações de *O. ilicis* foram extintas (Figura 1). A toxicidade crônica ocorreu pela atividade acaricida da azadiractina e por outros compostos desses extratos, com efeitos irreversíveis e progressivos em processos fisiológicos essenciais para o desenvolvimento de *O. ilicis*.

Os mecanismos de ação dos extratos de nim sobre ácaros são pouco conhecidos, mas a azadiractina atua na inibição da alimentação, atrasa o desenvolvimento e crescimento de larvas, reduz a fecundidade e fertilidade, altera o comportamento, causa anomalias nas células e na fisiologia e causa mortes de ovos, larvas e adultos de insetos e ácaros, além de afetar, também, fungos e nematóides (Martinez, 2002). Outros limonóides (grupo de tetranortriterpenóides), além da azadiractina, foram isolados da árvore nim, incluindo a salanina, 14-epoxiazadiradiona, meliantriol, nimbidina, nimbina, melianona, gedunina, nimbolina, ninbinem, deacetilsalanina, azadiractol, azadirona, vilosinina e meliacarpina (Kraus et al., 1987). Essas substâncias apresentam efeitos diversos como inibição da alimentação, repelência, diminuição da oviposição, interrupção da ecdise, redução da fertilidade e fecundidade e aumento da mortalidade de artrópodes (National Research Council, 1992; Martinez, 2002). Por isto, podem ser responsáveis pela toxicidade verificada ao ácaro *O. ilicis*.

Os limonóides são altamente solúveis em soluções alcoólicas (National Research Council, 1992), mas os compostos de nim, embora com boa eficiência pesticida (Tanzubil & Mccaffery, 1990; Martinez, 2002), não são totalmente solúveis em água. Por isto, extratos alcoólicos dessa planta, como os utilizados nesse trabalho, podem apresentar atividade pesticida até 50 vezes maior que a de extratos aquosos (National Research Council, 1992).

Extratos de folhas, sementes e óleo de torta de nim apresentam potencial como método alternativo para o controle do ácaro-praga *O. ilicis*.

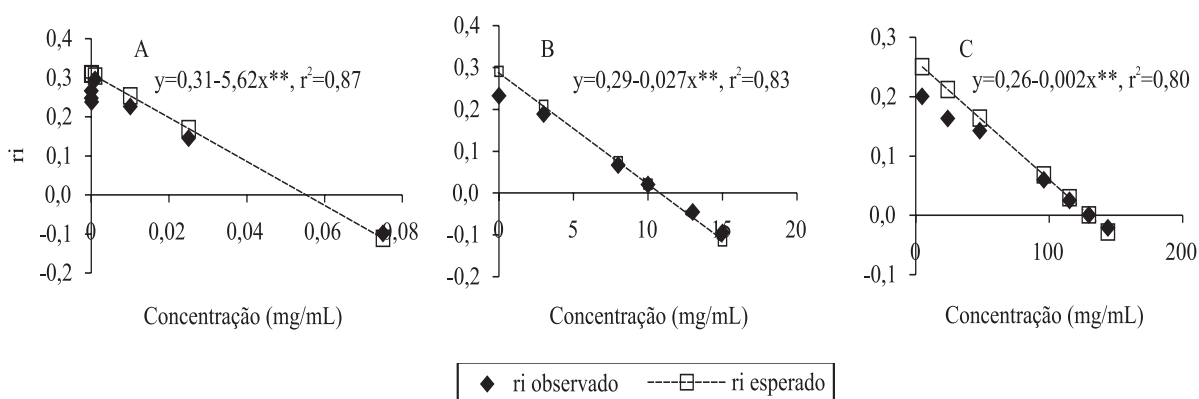


Figura 1. Taxa instantânea de crescimento populacional (r_i) do ácaro *Oligonychus ilicis* sob ação de extratos de óleo de torta (A), de sementes (B) e de folhas (C) de nim, a $25 \pm 2^\circ\text{C}$, $60 \pm 10\%$ de umidade relativa e 12 horas de fotoperíodo.

Agradecimentos

À Fapemig e ao CNPq, pelo auxílio financeiro; à Fapemig, pela concessão da bolsa de Apoio Técnico Especializado (BAT) ao primeiro autor.

Referências

- BRECHTEL, A.; FERNÁNDEZ, C.L. **El nim**: un árbol para la agricultura y el medio ambiente. San Domingo: Fundación Agricultura y Medio Ambiente, 1995. 133p.
- KRAUS, W.; BOKEL, M.; BRUHN, A.; CRAMER, R.; KLAIBER, I.; KLENK, A.; NAGL, G.; PÖHNL, H.; SADLO, H.; VOGLER, B. Structure determination by NMR of azadirachtin and related compounds from *Azadirachta indica* A. Juss (Meliaceae). **Tetrahedron**, v.43, p.2817-2830, 1987.
- MARTÍNEZ, S.S. (Ed.). **O nim – *Azadirachta indica***: natureza, usos múltiplos, produção. Londrina: Iapar, 2002. 142p.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (Washington, Estados Unidos). **Neem**: a tree for solving global problems. Washington: National Academy Press, 1992. 139p.
- POTTER, C. An improved laboratory apparatus for applying direct sprays and surface films, with data on the electrostatic charge on atomized spray fluids. **Annals of Applied Biology**, v.39, p.1-29, 1952.
- STARK, J.D.; TANIGOSHI, L.; BOUNFOUR, M.; ANTONELLI, A. Reproductive potential: its influence on the susceptibility of a species to pesticides. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.37, p.273-279, 1997.
- TANZUBIL, P.B.; MCCAFFERY, A.R. Effects of azadirachtin and aqueous neem seed extracts on survival, growth and development of the African armyworm, *Spodoptera exempta*. **Crop Protection**, v.9, p.383-386, 1990.
- WALTHALL, W.K.; STARK, J.D. A comparison of acute mortality and population growth rate as endpoints of toxicological effect. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v.37, p.45-52, 1997.

Recebido em 8 de dezembro de 2003 e aprovado em 14 de abril de 2004