

TOXICIDADE DE NOVOS PIRETRÓIDES BRASILEIROS A VESPA PREDADORA DO BICHO MINEIRO DO CAFEIRO *Protonectarina sylveirae* (SAUSSURE) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)

Shaiene Costa Moreno¹; Marcelo Coutinho Picanço¹; Flaviano Oliveira Silverio²; Élson Santiago de Alvarenga²; Ézio Marques da Silva¹; Vânia Maria Xavier¹

¹UFV, Dept^o de Biologia Animal, Viçosa-MG; ²UFV, Dept^o de Química; Viçosa-MG, scmoreno@gmail.br

RESUMO: A demanda por novos produtos para o manejo de pragas é crescente. Atualmente, o controle do bicho-mineiro-do-cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) é realizado por meio de inseticidas de amplo espectro de ação, capazes de causar desequilíbrios biológicos. Além da eficiência contra insetos-praga, novos inseticidas devem apresentar seletividade a inimigos naturais. No agroecossistema cafeeiro freqüentemente se observa a ação benéfica da vespa predadora do bicho mineiro *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae). Assim, neste trabalho objetivou-se avaliar a toxicidade de novos piretróides contendo modificações na parte de origem ácida ao predador *Protonectarina sylveirae*. Compostos potencialmente inseticidas análogos às piretrinas foram sintetizados a partir do D-manitol. Para avaliar a toxicidade desses compostos sobre *P. sylveirae*, foram realizados bioensaios com adultos desta vespa. Além dos novos piretróides, foi avaliada a toxicidade da permetrina, utilizada como padrão de toxicidade. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída de placa de Petri (9 cm de diâmetro por 2 cm de altura) contendo dez insetos. Os insetos foram pesados e tratados topicamente com as soluções dos piretróides diluídos em acetona usando-se uma microseringa Hamilton de 10 mL. Na testemunha os insetos foram tratados topicamente com igual volume da acetona pura. A avaliação da mortalidade foi realizada 48 horas após o tratamento. Os dados de mortalidade obtidos foram submetidos à análise de próbite, determinando-se curvas dose-mortalidade dos piretróides para os insetos. Por meio dessas curvas, foram estimadas as doses letais para 50% das populações (DL₅₀). Foram então calculados os índices de toxicidade relativa (ITR₅₀) dos piretróides. Os novos piretróides estudados apresentaram ação inseticida sobre *P. sylveirae*, entretanto tais compostos foram menos tóxicos a *P. sylveirae* que a permetrina.

Palavras-chave: atividade inseticida, inimigo natural, seletividade.

TOXICITY OF BRASILIAN NEW PYRETHROIDS TO THE PREDATOR WASP OF COFFEE LEAFMINER *Protonectarina sylveirae* (SAUSSURE) (HYMENOPTERA: VESPIDAE)

ABSTRACT: The demand of new products for handling of pests is growing. The control of the coffee leaf miner *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville & Perrottet, 1842) by broad spectrum pesticides can cause great ecological problems. Besides the efficiency against insect, new insecticides should present selectivity to natural enemies. In the coffee ecosystem frequently the beneficial action of the predator wasp of coffee leafminer *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae) is observed. So, in this work, it was to evaluate the toxicity of new pyrethroids containing modifications in the acid origin to the predator *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae). Compounds analog to pyrethrins with potential insecticide activity was synthesized. To evaluate the insecticidal activity of the synthesized compounds, biological assays were conducted with adults of *P. sylveirae*. The insecticidal activity of permethrin (92.2% purity, Syngenta) was also evaluated against the aforementioned specie and it was utilized as positive control. The experimental design was completely randomized with four replications. Each experimental unit consisted of a glass petri dish (9.5 cm x 2.0 cm) containing ten insects. Bioassays were conducted by topical application. For each individual insect was applied, using a 10 µL Hamilton micro syringe, 0.5 µL of a solution of the test compound, dissolved in acetone. In a control experiment, carried out under the same conditions, 0.5 µL of acetone was applied on each insect. The mortality counts were made after 48 hours of experiment. It was determined, for probit analysis, dose-mortality curves of the pyrethroids for the insects. Through those curves were dear the lethal doses for 50% of the populations (LD₅₀). Based on lethal doses the relative toxicity index were calculated. The new studied pyrethroids presented insecticide action on *P. sylveirae*. However, the toxicity of these compounds were lower than of permethrin.

Key words: insecticide activity, natural enemy, selectivity.

INTRODUÇÃO

O bicho mineiro do cafeeiro, *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae), é considerado praga-chave de *Coffea arabica* no Brasil e em alguns países da América Central e do Leste Africano por

causar sérios prejuízos na produção e no rendimento do café produzido. Este inseto é favorecido por plantios mais espaçados e regiões de clima mais seco (Souza *et al.*, 1998).

As larvas do bicho mineiro se alimentam do parênquima foliar ocasionando queda precoce das folhas (Souza *et al.* 1998). As injúrias provocadas por esta praga afetam também a longevidade do cafeeiro uma vez que a planta despenderá muito mais energia para recuperar o que foi perdido com as desfolhas. Têm-se verificado reduções de 30 a 80% na produtividade dos cafeeiros devido ao ataque desta praga (Souza *et al.*, 1998, Gallo *et al.*, 2002).

Para evitar tais prejuízos, o produtor se depara com a necessidade de recorrer a métodos de controle, dentre os quais se destaca o controle químico. Além dos perigos aos seres humanos relativos aos aspectos ocupacionais, alimentares e de saúde pública, o uso indiscriminado de inseticidas pode causar a redução das populações de insetos benéficos, a ressurgência e erupção de pragas e a perda de eficácia de inseticidas em razão da seleção de populações resistentes a esses compostos (Guedes, 1999).

O conhecimento dessa realidade promoveu a contínua busca por novas classes químicas que preenchessem os requisitos mínimos necessários para o controle efetivo de pragas: segurança, seletividade, biodegradabilidade e viabilidade econômica. Um dos caminhos para a síntese de agroquímicos mais específicos e menos persistentes no ambiente é a utilização de moléculas-modelos advindas de inseticidas naturais. Como exemplo de inseticida sintético produzido a partir de um protótipo natural, destacam-se os piretróides. A seletividade a inimigos naturais, baixo risco aos usuários, fotoestabilidade, baixa volatilidade e uso em pequenas doses, têm permitido o aparecimento de novos piretróides sintéticos com uso domissanitário e na agricultura (Soderlund *et al.*, 2002). Segundo Jeanmart (2003) os piretróides persistem nas plantações por até 30 dias e, como os resíduos são degradados a produtos normalmente polares (solúveis em água), eles não se acumulam na cadeia alimentar, como ocorre com outros compostos.

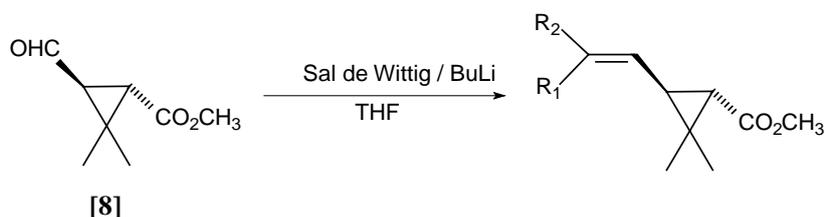
Várias espécies benéficas residentes no agroecossistema cafeeiro podem manter a população do bicho-mineiro abaixo do nível de dano econômico. Dentre os agentes de controle biológico de *L. coffeella*, os adultos de Vespidae predadores de lagartas se destacam (Campos *et al.*, 1989). No cafeeiro freqüentemente se observa a ação benéfica do predador *Protonectarina sylveirae* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae). Sua ocorrência e relevância como agente de controle biológico é relatada para diversas culturas e pragas. Segundo Tuelher *et al.* (2003), este predador pode reduzir o ataque do bicho-mineiro do cafeeiro *Leucoptera coffeella* (Guérin-Méneville) (Lepidoptera: Lyonetiidae) em até 90%. Dessa forma, para a implementação do manejo integrado de pragas (MIP) na cultura do cafeeiro, há necessidade de preservar e incrementar a densidade populacional dessa espécie no agroecossistema.

Para a preservação das vespas predadoras é indispensável a utilização de inseticidas seletivos a estas espécies. Assim, neste trabalho objetivou-se avaliar a toxicidade de novos piretróides contendo modificações na parte de origem ácida, a fim de elucidar a atividade inseticida desses compostos a *P. sylveirae*.

MATERIAL E MÉTODOS

A síntese dos piretróides foi realizada no Departamento de Química da UFV. Onze piretróides foram sintetizados segundo a rota sintética proposta por Alvarenga *et al.* (2006). A Tabela 1 apresenta os compostos sintetizados e os rendimentos das misturas de isômeros.

Tabela 1. Rendimento e estrutura dos compostos produzidos a partir do methyl 3-formil-2,2-dimethylciclopropane-1-carboxylate [8].



| Piretróides | R ₁ | R ₂ | Rendimento (%) |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|----------------|
| [9] | -CH ₃ | -CH ₃ | 23 |
| [10] | <i>p</i> -ArNO ₂ | -H | 80 |
| [11] | -H | <i>p</i> -ArNO ₂ | |
| [12] | <i>p</i> -ArBr | -H | 83 |
| [13] | -H | <i>p</i> -ArBr | |
| [14] | <i>p</i> -ArCl | -H | 95 |
| [15] | -H | <i>p</i> -ArCl | |
| [16] | <i>p</i> -ArF | -H | 66 |
| [17] | -H | <i>p</i> -ArF | |

| | | | |
|------|-----|-----|----|
| [18] | -Ar | -H | 60 |
| [19] | -H | -Ar | |

Os bioensaios de determinação de toxicidade dos piretróides foram conduzidos no Laboratório de Manejo Integrado de Pragas do Departamento de Biologia Animal da UFV. Além dos novos piretróides, foi avaliada a toxicidade da permetrina, utilizada como padrão de toxicidade. Nos testes foram usados adultos de *P. sylveirae*.

Os adultos da vespa predadora *P. sylveirae* foram obtidos de ninhos localizados nas proximidades da Mata do Paraíso, em Viçosa-MG. Utilizaram-se dois ninhos para a realização dos bioensaios. Os ninhos foram coletados em árvores com o auxílio de podão e sacos plásticos de 1,0 × 1,0 m. Foram utilizadas nas coletas roupas de proteção e fumigador. Os ninhos foram mantidos em gaiolas de 50 × 50 × 50 cm, teladas com malha de aço.

Os bioensaios foram realizados por meio de aplicações tópicas. Inicialmente foram feitos bioensaios para obtenção de faixas de resposta dos piretróides. A faixa de resposta, obtida com o objetivo de determinar as doses a serem usadas nos testes definitivos, foi definida como sendo o intervalo entre a menor dose, que não causa mortalidade, e a maior dose, que proporciona uma mortalidade superior a 90%. Dentro desta faixa foram estabelecidas entre cinco a dez doses que foram usadas para determinação de curvas de dose-mortalidade.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado com quatro repetições. Cada parcela experimental foi constituída de placa de Petri contendo dez insetos. Os insetos foram pesados e tratados topicamente com as soluções dos piretróides diluídos em acetona usando-se uma microseringa Hamilton de 10 µL. Foi aplicado 0,5 µL de solução/inseto. Na testemunha os insetos foram tratados topicamente com igual volume da acetona pura. Após a aplicação dos tratamentos os insetos foram mantidos em placas de Petri contendo cãndi como alimento. As placas de Petri com os insetos foram acondicionadas em estufa incubadora a 25 ± 0,5 °C, U.R. = 75 ± 5% e fotofase de 12 horas.

A avaliação da mortalidade foi realizada 48 horas após o tratamento. Os dados de mortalidade obtidos foram submetidos à análise de próbite. Foram aceitas curvas cuja probabilidade de aceitação da hipótese de nulidade pelo teste χ^2 fosse maior que 0,05. Por meio destas curvas, foram estimadas as doses letais para 50% das populações (DL₅₀). A DL₅₀ foi estimada por proporcionar alta confiabilidade nas comparações. A partir das doses letais estimadas foram calculados os índices de toxicidade relativa (ITR₅₀ = Maior DL₅₀ dos inseticidas para espécie/ DL₅₀ do inseticida para a espécie) dos piretróides para cada espécie estudada. Para todos os piretróides, foram calculados também os índices de seletividade diferencial (ISD₅₀ = DL₅₀ do inseticida para a praga/ DL₅₀ do inseticida para o predador) do predador em relação à praga.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os novos piretróides estudados apresentaram ação inseticida sobre *P. sylveirae*. Entre os inseticidas estudados, a mistura dos piretróides [18+19] apresentou a menor potência à *P. sylveirae* (Tabela 2). Seus índices de toxicidade relativa (ITR₅₀) foram então utilizados como referencial nas comparações, indicando quantas vezes um inseticida é mais potente que o outro.

Tabela 2. Equações, DL₅₀, qui - quadrado (χ^2), graus de liberdade (GL) e probabilidade das curvas de dose-mortalidade, 48 horas após a aplicação tópica de piretróides em lagartas de *Tuta absoluta* e adultos de *Protonectarina sylveirae*.

| Piretróides | N ⁽¹⁾ | Equações ⁽²⁾ | | DL ₅₀ (µg/g) ⁽³⁾ | χ^2 | GL | Prob. |
|---------------------|------------------|-------------------------|----------------|----------------------------------------|----------|----|-------|
| | | a | b (Média ± EP) | | | | |
| Permetrina | 280 | 0,434 | 0,976 ± 0,064 | 1,185 (1,008 - 1,358) | 1,73 | 5 | 0,885 |
| Piretróides [10+11] | 400 | 0,267 | 0,551 ± 0,033 | 2,770 (2,226 - 3,399) | 2,36 | 8 | 0,968 |
| Piretróides [12+13] | 280 | 0,242 | 0,620 ± 0,040 | 2,845 (2,269 - 3,478) | 7,63 | 5 | 0,178 |
| Piretróides [14+15] | 360 | -0,001 | 1,113 ± 0,082 | 2,948 (2,671 - 3,250) | 5,36 | 7 | 0,617 |
| Piretróides [16+17] | 320 | 0,057 | 0,756 ± 0,059 | 3,963 (3,372 - 4,743) | 3,09 | 6 | 0,797 |
| Piretróides [18+19] | 360 | -0,061 | 0,713 ± 0,046 | 6,482 (5,647 - 7,530) | 2,12 | 7 | 0,953 |

⁽¹⁾ N = número de insetos usados no testes. ⁽²⁾ Y = mortalidade (proporção), X = logaritmo da dose (µg de substância/mg de massa do inseto), EP = erro padrão da média. ⁽³⁾ Os valores entre parênteses correspondem aos intervalos de confiança a 95% de probabilidade.

A permetrina foi o inseticida mais tóxico, ficando os demais inseticidas em situação intermediária (Figura 1). A baixa potência da mistura dos piretróides [18+19] pode estar associada à ausência de halogênios na parte ácida da molécula, visto que é o único composto em que não houve adição de halogênio na cadeia aromática lateral. Segundo

Kascheres & Cunha (1989) a presença de halogênios na porção ácida torna os compostos mais tóxicos a insetos, aumentando a estabilidade da molécula na presença de ar e luz.

Em comparação com a permetrina, os novos piretróides estudados foram menos potentes, o que seria benéfico. Observou-se que, de forma geral, eles foram cerca de duas a cinco vezes menos potentes que a permetrina para *P. sylveirae* (Figura 1). A baixa toxicidade dos novos piretróides pode estar relacionada à menor penetração dos compostos através da cutícula dos insetos, à maior taxa de metabolização dessas substâncias e à menor capacidade de interagir com o sítio de ação (Stock & Holloway, 1993).

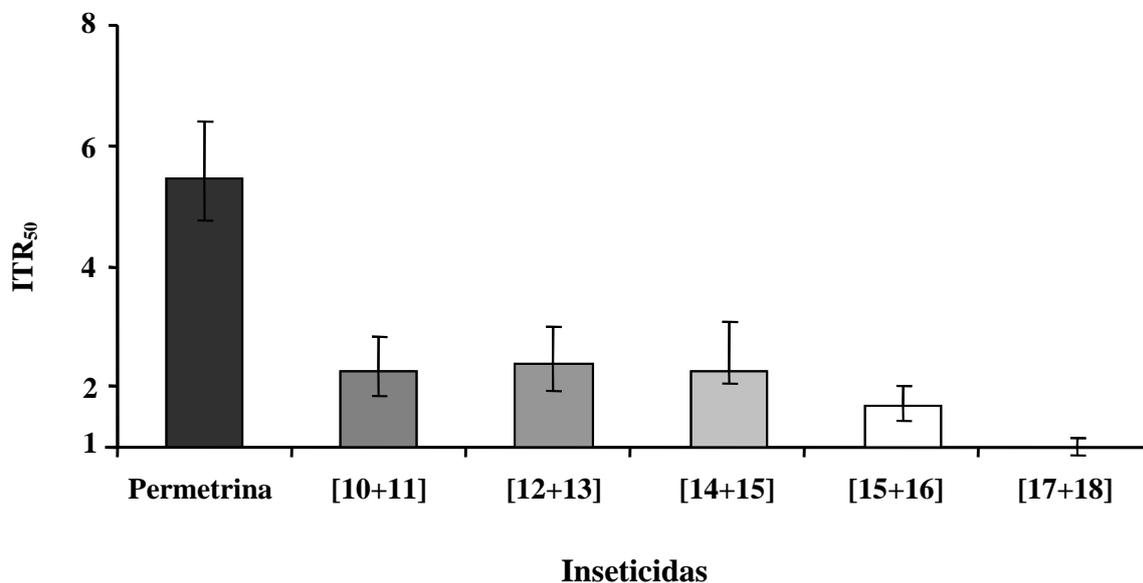


Figura 1. Índices de toxicidade relativa de seis piretróides para *Protonectarina sylveirae*.

A baixa eficiência dos novos piretróides pode estar relacionada à menor penetração dos compostos através da cutícula dos insetos, à maior taxa de metabolização dessas substâncias e à menor capacidade de interagir com o sítio de ação (Georghiou & Saito, 1983; Guedes et al., 1992; Stock & Holloway, 1993).

A taxa de penetração das substâncias através da cutícula dos insetos está relacionada à espessura da cutícula, à massa molecular do composto e às semelhanças de polaridade do composto e da cutícula dos insetos (Gerolt, 1970; Yu, 1987, 1988). A espessura da cutícula dos insetos pode explicar a variação na toxicidade de um inseticida a diferentes espécies de insetos, porém não explica a diferença na toxicidade de inseticidas distintos a uma mesma espécie.

A menor potência dos piretróides estudados poderia estar relacionada à massa molecular dos compostos. Segundo Stock & Holloway (1993) substâncias com maiores massas moleculares possuem menor taxa de penetração na cutícula dos insetos. Galvan et al. (2002) sugerem que a diferença na atividade dos piretróides deltametrina e fenpropatrina a *Protopolybia exigua* (Saussure) (Hymenoptera: Vespidae), esteja relacionada às diferenças em suas massas moleculares. Entretanto, esse fator não deve estar influenciando os resultados obtidos neste trabalho, já que a permetrina apresentou maior toxicidade e possui maior massa molecular (391,3 g/mol) que os novos piretróides ([10] e [11] = 275 g/mol, [12] e [13] = 309 g/mol, [14] e [15] = 264,5 g/mol, [16] e [17] = 248 g/mol e [18] e [19] = 230 g/mol).

As semelhanças de polaridade dos piretróides com as substâncias que compõem a cutícula das espécies pode também ser umas das causas da menor eficiência dos novos piretróides em relação à permetrina. A lipofilia das substâncias é inversamente proporcional à solubilidade do inseticida em água, sendo que compostos lipofílicos, devido a sua semelhança com a cutícula, geralmente penetram em maiores taxas no corpo do inseto. Apesar dos novos piretróides estudados serem praticamente insolúveis em água, indicando alta lipofilia, não se conhece a relação da solubilidade dessas substâncias com a solubilidade da permetrina. A maior lipofilia da permetrina poderia então explicar sua maior potência quando comparada aos novos piretróides.

A decomposição e excreção das substâncias pelas espécies também podem ter contribuído para a menor potência dos novos piretróides às espécies de insetos estudadas. Os piretróides sintéticos são ésteres passíveis de hidrólise do grupo éster, produzindo metabólitos ácidos e alcoólicos, sendo que estes metabólitos são de fácil eliminação pelos insetos. A hidrólise dos piretróides está ligada à facilidade das enzimas esterases atuarem sobre essas moléculas inseticidas. Outras enzimas podem atuar nesses compostos inserindo grupos hidroxilas, de modo a torná-las mais solúveis. (Soderlund et al., 2002; Ribeiro et al., 2003). A geometria da molécula pode influenciar a interação com os sítios ativos das enzimas detoxificativas, e também pode estar contribuindo para a decomposição dos piretróides (Soderlund et al., 2002).

CONCLUSÕES

Os novos piretróides estudados apresentam ação inseticida sobre a vespa predadora do bicho mineiro do cafeeiro *P. sylveirae*, entretanto tais compostos foram menos tóxicos a *P. sylveirae* que a permetrina.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), a Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG), a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e ao PNP&D/Café pelo financiamento do projeto e pelas bolsas concedidas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARENGA, E.S.; CARNEIRO, V.M.T.; SILVERIO, F.O. A High yield synthesis of 1,2:5,6-di-o-isopropylidene-d-mannitol. **Journal of the Chilean Chemical Society**, v.51, n.3, p.986-988, 2006.
- BACCI L. 2006. **Fatores determinantes do ataque de Tuta absoluta ao tomateiro**. Viçosa, MG, 2006, 123p. Tese (Doutorado em Entomologia) - Universidade Federal de Viçosa.
- BORGONI CP; SILVA RA; CARVALHO GS. Consumo de mesofilo foliar por *Tuta absoluta* (Meyrick, 1917) (Lepidoptera: Gelechiidae) por três cultivares de *Lycopersicon esculentum* Mill. **Ciência Rural**, v.33, p.7-11, 2003.
- CAMPOS, O.; DECAZY, G.B.; CARRILLO, E. Dinámica poblacional del minador de la hoja del caféto *Leucoptera coffeella* y sus enemigos naturales en la Zona de Nuevo San Carlos, **Retalhuleu**, Guatemala. Turrialba v.39, p. 393-399, 1989.
- GALLO, D., O. NAKANO, S. SILVEIRA-NETO, R.P.L. CARVALHO, G.C. BAPTISTA, E. BERTI-FILHO, J.R.P. PARRA, S.B. ALVES, J.D. VENDRAMIN, L.C. MARCHINI, J.R.S. LOPES; C. OMOTO. 2002. **Manual de Entomologia Agrícola**. Piracicaba, FEALQ, 649p.
- GALVAN T.L.; PICANÇO, M.C.; BACCI,L.; PEREIRA, E.J.G.; CRESPO, A.L.B. Seletividade de oito inseticidas a predadores de lagartas em citros. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.37, n.2, p.117-122, 2002.
- GEROLT, P. The mode of entry of contact insecticides. **Pesticide Science**, v.1, p.209-212, 1970.
- GUEDES RNC. 1999. Resistência de insetos a inseticidas. In: ZAMBOLIM, L. **I Encontro sobre manejo de doenças e pragas**. Viçosa: UFV: 101-107.
- KASCHERES C; CUNHA IBS. Piretróides como uma classe de inseticidas. Aplicações, desenvolvimento químico e perspectivas. **Química Nova**, v.12, p.272-281, 1989.
- LEITE GLD; PICANÇO M; GUEDES RNC; ZANUNCIO JC. Role of plant age in the resistance of *Lycopersicon hirsutum* f. *glabratum* to the tomato leafminer *Tuta absoluta* (Lepidoptera: Gelechiidae). **Scientia Horticulturae**, v.89, p.103-113, 2001.
- RIBEIRO, B.M.; GUEDES, R.N.C.; OLIVEIRA, E.E.; SANTOS, J.P. Insecticide resistance and synergism in Brazilian populations of *Sitophilus zeamais* (Coleoptera: Curculionidae). **Journal of Stored Products Research**, v.39, p.21-31, 2003.
- SODERLUND, D.M.; CLARK, J.M.; SHEETS, L.P.; MULLIN, L.S.; PICCIRILLO, V.J.; SARGENT, D.; STEVENS, J.T.; WEINER, M.L. Mechanisms of pyrethroid neurotoxicity: implications for cumulative risk assessment. **Toxicology**, v.171, p.3-59, 2002.
- SOUZA, J.C.; REIS, P.R.; RIGITANO, R.L.O. 1998. **Bicho-mineiro-do-cafeeiro: Biologia, danos e manejo integrado**. Belo Horizonte, Epamig, 48p.
- STOCK, D.; HOLLOWAY, P.J. Possible mechanisms for surfactant-induced foliar uptake of agrochemicals. **Pesticide Science**, v.38, p.165-177, 1993.
- TUELHER, E.S., E.E. OLIVEIRA, R.N.C. GUEDES; L.C. MAGALHÃES. Ocorrência de bicho-mineiro do cafeeiro (*Leucoptera coffeella*) influenciada pelo período estacional e pela altitude. **Acta Scientiarum**, v.25, p.119-124, 2003.
- YU, S.J. Biochemical defense capacity in the spined soldier bug (*Podisus maculiventris*) and its lepidopterous prey. **Pesticide Biochemical Physiology**, v.28, n.3, p.216-223, 1987.
- YU, S.J. Selectivity of insecticides to the spined bug (Heteroptera: Pentatomidae) and its lepidopterous prey. **Journal of Economic Entomology**, v.81, n.1, p.119-122, 1988.