

UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
***CAMPUS* CHAPECÓ**
CURSO DE AGRONOMIA

SAMANTA BAHLS DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS APÓS EXPOSIÇÃO A DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE PRODUTO À BASE DE ÓLEO DE NEEM
(*Azadirachta indica*)**

CHAPECÓ

2024

SAMANTA BAHLS DE OLIVEIRA

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS APÓS EXPOSIÇÃO A DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE PRODUTO À BASE DE ÓLEO DE NEEM
(*Azadirachta indica*)**

Trabalho de conclusão de curso, manuscrito em formato de artigo, apresentado ao curso de graduação em Agronomia da Universidade Federal da Fronteira Sul, *Campus* Chapecó, como requisito para obtenção do título de Bacharel em Agronomia.

Este trabalho foi defendido e aprovado pela banca em 28/11/2024.

BANCA EXAMINADORA

Documento assinado digitalmente
gov.br MARCO AURELIO TRAMONTIN DA SILVA
Data: 09/12/2024 17:28:35-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Marco Aurélio Tramontin da Silva – UFFS
Orientador



Prof. Dr. Samuel Mariano Gislon da Silva – UFFS
Avaliador

Documento assinado digitalmente
gov.br SIUMAR PEDRO TIRONI
Data: 09/12/2024 17:24:15-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Siumar Pedro Tironi – UFFS
Avaliador



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DA FRONTEIRA SUL
COORDENAÇÃO DO CURSO DE AGRONOMIA - CHAPECÓ

**ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC Nº 5 / 2024 - CCA - CH
(10.41.13.12)**

Nº do Protocolo: 23205.034139/2024-31

Chapecó-SC, 28 de novembro de 2024.

ATA DE DEFESA PÚBLICA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO EM AGRONOMIA

Aos 28 dias do mês de novembro de 2024, às 16:30 horas, foi realizada, na sala 308, Bloco A, a defesa pública do Trabalho de Conclusão de Curso em Agronomia de Samanta Bahls de Oliveira, intitulado: **AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS APÓS EXPOSIÇÃO A DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE PRODUTO À BASE DE ÓLEO DE NEM (*Azadirachta indica*)**.

A Banca Examinadora, constituída pelo professor orientador Marco Aurélio Tramontin da Silva, pelo professor Siumar Pedro Tironi e pelo professor Samuel Mariano Gislon da Silva, emitiu o seguinte parecer:

() Aprovado com nota:

(x) Aprovado com correções sugeridas pela banca examinadora com prazo de 07 dias. Nota: 9,0

() Reprovado

Obs. A aprovação com restrições fica condicionada à aprovação pelo orientador das sugestões realizadas e corrigidas no período estipulado pela banca.

Obs:

Eu, Prof. Marco Aurélio Tramontin da Silva, orientador da discente, lavrei a presente Ata que segue por mim assinada e pelos demais membros da Banca Examinadora.

(Assinado digitalmente em 03/12/2024 16:10)

MARCO AURELIO TRAMONTIN DA SILVA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
CCA - CH (10.41.13.12)
Matrícula: 1862788

(Assinado digitalmente em 29/11/2024 13:48)

SAMUEL MARIANO GISLON DA SILVA
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
ACAD - CH (10.41.13)
Matrícula: 1348421

(Assinado digitalmente em 29/11/2024 16:32)

SIUMAR PEDRO TIRONI
PROFESSOR DO MAGISTERIO SUPERIOR
ACAD - CH (10.41.13)
Matrícula: 1810571

Visualize o documento original em <https://sipac.uffs.edu.br/public/documentos/index.jsp> informando seu número: **5**, ano: **2024**, tipo: **ATA DE DEFESA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO - TCC**, data de emissão: **28/11/2024** e o código de verificação: **25807920ab**

Bibliotecas da Universidade Federal da Fronteira Sul - UFFS

Oliveira, Samanta Bahls de
AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE
NEMATÓIDES ENTOMOPATOGÊNICOS APÓS EXPOSIÇÃO A DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE PRODUTO À BASE DE ÓLEO DE NEEM
(Azadirachta indica) / Samanta Bahls de Oliveira, Marco
Aurélio Tramontin da Silva. -- 2024.
16 f.

Orientador: Prof^o Dr. Marco Aurélio Tramontin da
Silva

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) -
Universidade Federal da Fronteira Sul, Curso de
Bacharelado em Agronomia, Chapecó, SC, 2024.

1. Controle Biológico. 2. Oscheius sp.. 3. Inseticida
Botânico. I. Silva, Marco Aurélio Tramontin da II.
Silva, Marco Aurélio Tramontin da, orient. III.
Universidade Federal da Fronteira Sul. IV. Título.

Elaborada pelo sistema de Geração Automática de Ficha de Identificação da Obra pela UFFS
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**AVALIAÇÃO DA VIABILIDADE E INFECTIVIDADE DE NEMATOIDES
ENTOMOPATOGÊNICOS APÓS EXPOSIÇÃO A DIFERENTES
CONCENTRAÇÕES DE PRODUTO À BASE DE ÓLEO DE NEEM
(*Azadirachta indica*)**

Samanta Bahls^{1*}
Marco Aurélio Tramontin^{2**}

RESUMO

Os nematoides entomopatogênicos são considerados inimigos naturais de insetos que habitam o solo e incluem também aqueles que atuam como pragas em cultivos agrícolas. Seu uso é uma alternativa promissora ao emprego excessivo de produtos químicos. Da mesma forma, os inseticidas de origem botânica são ferramentas eficientes no controle de insetos-praga. Nesse contexto, estudos sobre a interação entre agentes de controle não químico — como os inseticidas botânicos e os nematoides entomopatogênicos — apresentam potencial para transformar o mercado de pesticidas. Objetivou-se com este estudo avaliar se há o efeito de diferentes concentrações de um produto comercial à base de óleo de neem na viabilidade e infectividade de juvenis infectantes (JIs) de nematoides. Foram conduzidos três experimentos em delineamento inteiramente casualizado, com cinco repetições por tratamento. Em cada repetição, foram utilizados 5.000 JIs de dois isolados: '25-6' (*Oscheius tipulae*) e 'UENP6' (*Heterorhabditis amazonensis*). Para o isolado '25-6', dois experimentos foram realizados com diferentes concentrações do óleo de neem: 0%, 5%, 25%, 50% no primeiro, e 0%, 50%, 100% e 200% no segundo, sendo o tratamento controle composto por água destilada. No terceiro experimento, realizado com o isolado 'UENP6', foram testadas as concentrações de 0%, 50%, 100% e 200%. As premissas de normalidade e homocedasticidade dos dados foram avaliadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Os dados de viabilidade e infectividade de JIs foram submetidos à análise de variância, e as médias comparadas pelo teste de Tukey, com nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas no software R. Os resultados mostraram que ambas as espécies de nematoides perderam viabilidade e infectividade após exposição ao inseticida botânico à base de óleo de neem. O isolado *O. tipulae* apresentou incompatibilidade com o produto nas concentrações de 5%, 25%, 50%, 100% e 200%. O mesmo ocorreu com o isolado *H. amazonensis* nas concentrações de 50%, 100% e 200%.

Palavras-chave: *Oscheius* sp.; Inseticida Botânico; Controle Biológico.

^{1*} Discente do curso de Agronomia e integrante do grupo de pesquisa NEFIT na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Chapecó. E-mail: samanta.bahls@estudante.uffs.edu.br.

^{2**} Docente orientador, coordenador do curso de Agronomia e integrante do grupo de pesquisa NEFIT na Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Chapecó. E-mail: marco.silva@uffs.edu.br.

**EVALUATION OF THE VIABILITY AND INFECTIVITY OF
ENTOMOPATHOGENIC NEMATODES AFTER EXPOSURE TO DIFFERENT
CONCENTRATIONS OF A NEEM OIL-BASED PRODUCT
(*Azadirachta indica*)**

Samanta Bahls^{3*}
Marco Aurélio Tramontin^{4**}

ABSTRACT

Entomopathogenic nematodes are considered natural enemies of insects that inhabit the soil, including those that act as pests in agricultural crops. Their use may offer an alternative to the current excessive use of chemical products. Similarly, plant-based insecticides are also regarded as efficient tools for pest control. In this context, studies that investigate the combination of non-chemical control agents — such as botanical insecticides and entomopathogenic nematodes — have the potential to transform the pesticide market. The objective with this study was to evaluate if different concentrations of a commercial neem oil-based product affect the viability and infectivity of infective juveniles (IJs) of nematodes. Three experiments were conducted in a completely randomized design with five replicates per treatment. In each replicate, 5,000 IJs from two isolates were used: '25-6' (*Oscheius tipulae*) and 'UENP6' (*Heterorhabditis amazonensis*). For the '25-6' isolate, two experiments were carried out with different neem oil concentrations: 0%, 5%, 25%, 50% in the first experiment, and 0%, 50%, 100%, and 200% in the second, with the control treatment consisting of distilled water. In the third experiment, conducted with the 'UENP6' isolate, concentrations of 0%, 50%, 100%, and 200% were tested. Assumptions of normality and homoscedasticity of the data were evaluated using the Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively. The results of the viability and infectivity were subjected to analysis of variance, and the means were compared using Tukey's test at a 5% significance. All analyses were performed using R software. The results showed that both nematode species lost viability and infectivity after exposure to the botanical insecticide based on neem oil. The *O. tipulae* isolate exhibited incompatibility with the product at concentrations of 5%, 25%, 50%, 100%, and 200%. Similarly, the *H. amazonensis* isolate was incompatible at concentrations of 50%, 100%, and 200%.

Keywords: *Oscheius* sp.; Botanical Insecticide; Biological Control.

^{3*} Student of the Agronomy course and a member of the NEFIT research group at *Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó* campus. Email: samanta.bahls@estudante.uffs.edu.br.

^{4**} Professor advisor, coordinator of the Agronomy course, and member of the NEFIT research group at *Universidade Federal da Fronteira Sul, Chapecó* campus. Email: marco.silva@uffs.edu.br.

INTRODUÇÃO

No Brasil e no mundo, a agricultura utiliza insumos químicos para fortalecer e aumentar a produção, especialmente em resposta aos desafios impostos por fatores bióticos e abióticos que afetam os diferentes tipos de cultivo e regiões. O uso de agrotóxicos, intensificado pela Revolução Verde na década de 1960 tornou-se prática comum, muitas vezes aplicada de maneira indiscriminada, gerando impactos negativos ao meio ambiente, entre os quais estão a contaminação do solo, dos recursos hídricos, além do impacto na fauna e flora dos agroecossistemas (Serra *et al.*, 2016). A intoxicação de organismos não-alvo, como insetos polinizadores, aves, mamíferos, peixes e microrganismos do solo, pode reduzir a biodiversidade e interromper ciclos ecológicos (Ribas & Matsumura, 2009). Além disso, a resistência desenvolvida por pragas devido ao uso repetitivo de agrotóxicos agrava a situação, aumentando a necessidade de doses mais altas ou produtos mais potentes, perpetuando assim, um ciclo prejudicial (Pimentel, 2005).

Como alternativa, nematoides entomopatogênicos (NEPs) desempenham importante eficácia no controle biológico de insetos-praga. Além disso, atuam em funções ecológicas fundamentais, como decompositores, predadores, parasitas e presas; Habitam geralmente o solo, água e muitas vezes são parasitas de animais, insetos e também de plantas. O termo "entomopatogênico" refere-se à capacidade de matar ou causar patogenia em insetos, sendo utilizado para descrever organismos que liberam toxinas e outras substâncias com atividade inseticida (Almenara, 2011). Esses nematoides carregam em seu sistema digestivo bactérias que são liberadas no inseto, causando a morte do hospedeiro em até 48 horas (Ciche & Ensign, 2003). Dessa forma, os NEPs são uma ferramenta valiosa no controle de pragas agrícolas devido à sua alta capacidade de infecção e seletividade. Nos últimos anos, as pesquisas sobre esses organismos têm se expandido, abordando temas como as interações simbióticas com bactérias, do desenvolvimento de formulações para armazenamento e uso prático, além da identificação de novas espécies (Campos-Herrera, 2015), o que é crucial, pois o isolamento de espécies nativas resulta em controle com maior seletividade e menor impacto sobre o meio ambiente e outros organismos. Assim, os NEPs representam uma abordagem promissora e sustentável para o manejo de pragas, contribuindo para soluções mais seguras e ambientalmente responsáveis.

Outra abordagem é o uso de inseticidas de origem botânica. Ao longo da evolução, algumas plantas desenvolveram mecanismos de defesa contra predadores herbívoros, sintetizando metabólitos secundários com propriedades inseticidas (Vendramim & Castiglioni, 2000; Schaller, 2008). Esses compostos, derivados das plantas, afetam processos essenciais

dos insetos e são classificados de acordo com o modo de ação, podendo repelir, inibir a alimentação ou serem tóxicos. O uso de extratos de plantas com potencial inseticida remonta a períodos anteriores à criação de produtos sintéticos e ainda é amplamente aplicado, especialmente em sistemas de produção orgânica e familiares, devido à fácil obtenção e ao custo relativamente baixo (Venzon *et al.*, 2007). Entre os exemplos mais conhecidos, destaca-se o neem (*Azadirachta indica*). Originária da Índia, a planta é valorizada por suas propriedades inseticidas, acaricidas, antifúngicas e bactericidas. Seu principal composto bioativo, a azadiractina, interfere no crescimento, na reprodução e na alimentação dos insetos, inibindo seu desenvolvimento ou, em casos de alta intoxicação, levando-os à morte (Isman, 2020). O uso do neem como inseticida botânico apresenta vantagens ambientais significativas, como a redução dos riscos de contaminação do solo e da água, além de minimizar os impactos negativos sobre organismos não-alvo. Por se decompor mais rapidamente que muitos inseticidas sintéticos, contribui para a preservação da biodiversidade e dos ecossistemas (Koul *et al.*, 2004).

Conseqüentemente a isso, os nichos de mercado que asseguram ao consumidor o não uso de insumos químicos e disponham de rastreabilidade dos produtos têm crescido significativamente. Um dos grandes desafios é, portanto, equilibrar a produtividade enquanto se melhora a qualidade dos produtos, garantindo o valor nutritivo, a ausência de resíduos tóxicos e a conservação dos recursos naturais de produção para as futuras gerações. Essa abordagem garante produtos de qualidade sem comprometer a saúde das pessoas envolvidas na cadeia produtiva. No entanto, é evidente que a pesquisa científica ainda carece de informações sobre o uso combinado de diferentes formas de controle de insetos-praga agrícolas, especialmente no que diz respeito à interação entre agentes de controle biológico e inseticidas botânicos. Com base nessa necessidade, o objetivo foi avaliar se há viabilidade e infectividade de duas espécies de NEPs após exposição a diferentes concentrações do inseticida botânico à base de óleo de neem.

MATERIAL E MÉTODOS

Três experimentos foram realizados no Laboratório de Botânica, Ecologia e Entomologia da Universidade Federal da Fronteira Sul (UFFS), *Campus* Chapecó, utilizando dois isolados de NEPs do banco do laboratório denominados 'UENP6' e '25-6'. Para o isolado '25-6', foram testadas seis concentrações do produto, em dois experimentos separados: 0%, 5%, 25%, 50% no primeiro e 0%, 50%, 100% e 200% no segundo; sendo o tratamento controle, composto por água destilada. Para o isolado 'UENP6', no terceiro experimento,

foram utilizadas quatro concentrações: 0%, 50%, 100% e 200%. Foram incluídas ainda, cinco réplicas para cada tratamento, e para cada uma, utilizados 5.000 juvenis infectantes (JIs) de nematoides. Estes foram cultivados em larvas de último instar de *Tenebrio molitor* L. (Coleoptera:Tenebrionidae), seguindo a metodologia de Potrich *et al.* (2007).

Primeiramente, para a multiplicação de nematoides (de cada isolado), foram utilizadas 10 placas de Petri, cada uma contendo duplo papel filtro e 10 larvas de *T. molitor*, nas quais foram aplicados 2 mL de solução contendo os NEPs, com o auxílio de pipeta automática. Esse procedimento, denominado inoculação, promove a infecção dos nematoides nas larvas de *Tenebrio*. Após a inoculação, as placas foram envoltas em papel filme e mantidas em *BOD* por 48 horas. Decorrido esse período, somente as larvas mortas foram transferidas para outras placas contendo um papel filtro, processo denominado câmara seca, onde os NEPs multiplicam-se e completam seu ciclo de vida no hospedeiro. As placas foram então retornadas à *BOD* e após cinco dias foram transferidas para novas placas, contendo um suporte central que eleva um papel filtro, onde as larvas são dispostas verticalmente de modo que seus cadáveres fiquem em contato com a água – a qual cobriu aproximadamente um terço da altura da placa – processo chamado armadilha de white (AW), que permite a translocação dos NEPs para a água em suspensão (White, 1927). A presença de NEPs foi confirmada ao microscópio estereoscópico, e a solução coletada foi separada em béqueres para contagem e cálculo de viabilidade dos nematoides. Com o auxílio da pipeta automática, foram retiradas dez alíquotas de 0,1 mL, que foram adicionadas em dez poços de uma placa de *Elisa*. Realizou-se a contagem dos nematoides viáveis e inviáveis ao microscópio, sendo utilizado regra de três simples para estimar o número de NEPs viáveis no volume total de cada béquer. Os dados de viabilidade dos NEPs para a montagem do experimento podem ser observados na Tabela 1.

Tabela 1. Nematoides utilizados no experimento:

Isolado	Espécie	Data	Viabilidade
25-6	<i>Oscheius tipulae</i>	08/05/2024	98,7%
		27/07/2024	98,4%
UENP6	<i>Heterorhabditis amazonensis</i>	20/05/2024	92,7%

Fonte: Autora (2024).

Após obter a viabilidade necessária, procedeu-se à diluição do produto Fitoneem® (Tabela 2) segundo o cálculo de diluição de concentrações, dobrando a dose recomendada pelo fabricante (para volume de 400 L de calda), onde foram obtidos os valores para 5% - 0,075 mL; 25% - 0,375 mL; 50% - 0,75 mL; 100% - 1,5 mL; 200% - 3 mL, que foram ajustados proporcionalmente ao volume dos balões volumétricos utilizados no experimento (100 mL para cada tratamento).

Tabela 2. Produto Fitoneem® a base de óleo de neem:

Nome Comercial	Ingrediente Ativo	Formulação	Classe Grupo Químico	Concentração	Dose Recomendada
Fitoneem®	Azadiractina	‘Azadiractina A’ 2 g/L (0,2% m/v) ‘Azadiractina B’ 1 g/L (0,1% m/v) Outros 150 g/L (15% m/v)	Inseticida/ Fungicida Tetranortriterpenóide	850g/L	3L/ha

Fonte: Autora (2024).

Foram retirados 5 mL da solução e adicionados a tubos de ensaio de fundo chato contendo mais 5 mL de água destilada com 5.000 juvenis infectantes (JIs) de nematoides (o procedimento foi feito para cada réplica). Dessa forma, cada tubo apresentou um volume total de 10 mL e 5.000 JIs. Em seguida, os tubos foram fechados e levados à câmara *BOD* por 48h, sob condições controladas de $25 \pm 1^\circ\text{C}$ de temperatura e $70 \pm 10\%$ de umidade relativa (UR) e 12 horas de fotofase. Foram avaliados os parâmetros de viabilidade e infectividade dos NEPs após a exposição às concentrações do óleo de neem.

Para a análise de dados que envolvem a avaliação da viabilidade, foi necessário a realização de lavagem tríplice dos tubos para evitar a exposição prolongada dos NEPs ao produto, por mais que o tempo estipulado. Ademais, é importante salientar que após esse período, os nematoides decantam no fundo do tubo, portanto, deve-se evitar movimentações bruscas para não dispersar os NEPs no conteúdo líquido e garantir que apenas o sobrenadante seja removido. Os tubos foram levados à geladeira por 30 minutos a 10°C para acelerar o processo de decantação. O sobrenadante, cerca de 5 mL, foi retirado, descartado e substituído por 5 mL de água destilada com o auxílio de pipeta. Esse procedimento foi repetido três vezes e, ao final, os tubos foram homogeneizados, e a viabilidade dos nematoides constatada ao microscópio.

Já para a infectividade, de cada tubo dos tratamentos foi retirado 2 mL da suspensão e inoculado em dez larvas de *T. molitor* em uma placas de Petri (para cada repetição) contendo dupla folha de papel filtro e envoltas em papel filme, mantidas por 48 horas em câmara *BOD*, sob condições controladas previamente descritas. Procedeu-se, portanto, a análise de

mortalidade e cálculo da capacidade infectiva, conduzindo a contagem e cálculo de porcentagem de larvas mortas. Após a contagem, as larvas mortas foram transferidas à câmara seca por cinco dias e translocadas para a AW para o desenvolvimento de novas gerações de JIs, conforme Potrich *et al.* (2007). Os NEPs produzidos foram contabilizados assim que constatado emergência a fim de determinar a porcentagem de produção de JIs de cada isolado em cada tratamento.

As premissas de normalidade e homocedasticidade dos dados foram verificadas pelos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente. Os dados de viabilidade e infectividade de JIs foram submetidos à análise de variância e as médias foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. Todas as análises foram submetidas no software R (R Core Team, 2022).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O isolado 25-6 apresentou incompatibilidade com as concentrações de 5%, 25%, 50%, 100% e 200% de óleo de neem, o que resultou numa redução significativa de sua viabilidade e infectividade. Após 48 horas de exposição, os valores de viabilidade variaram de 7% a 29% nos dois experimentos com o NEP (Tabelas 3 e 4). Na tabela 3, a maior viabilidade foi de 29% para a concentração de 5%, enquanto, na Tabela 4, os valores ficaram entre 11% e 12% para as concentrações de 50% e 100%. Além disso, em ambos os experimentos, os nematoides expostos à concentração de 50% apresentaram viabilidade semelhante, como indicado pelo baixo coeficiente de variação (CV) observado entre os tratamentos de 9,05%.

Após 48 horas de exposição ao produto, a análise da infectividade revelou que as diferentes concentrações tiveram um efeito deletério sobre o nematoide (Tabela 3). Apesar disso, os NEPs foram capazes de causar a morte de larvas de *T. molitor*, embora o número de mortes tenha sido baixo. Essa conclusão é corroborada pela ausência de diferença estatística, justificada pelo elevado CV de 57,59%.

Na Tabela 4, os valores de infectividade apresentaram diferença estatística nas concentrações de 50%, 100% e 200%, indicando respostas significativas. No entanto, os NEPs expostos à concentração de controle e à de 50% tiveram resultados semelhantes. Esses valores, contudo, não podem ser considerados idôneos, visto que, na Tabela 3, a concentração de 50% registrou um valor de infectividade de 56%, enquanto, na Tabela 4, o resultado foi de 74%, evidenciando uma alta variação nos resultados para a mesma concentração. O resultado indica uma baixa compatibilidade com as concentrações avaliadas, o que limita o uso combinado dos produtos.

Tabela 3. Experimento 1. Porcentagens de viabilidade e infectividade do nematoide entomopatogênico *O. Tipulae* após 48 horas de exposição ao produto comercial Fitoneem®.

Tratamento (Dose comercial)	Viabilidade (%)	Infectividade (%)
Controle	96,8 ± 1,5 a	58,0 ± 1,7 a
Neem 5%	29,5 ± 5,5 b	68,0 ± 2,3 a
Neem 25%	20,8 ± 3,5 c	60,0 ± 3,0 a
Neem 50%	13,1 ± 2,8 d	56,0 ± 1,5 a
CV (%)	9,15	57,59

Fonte: Autora (2024). Média ± Desvio padrão, seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Tabela 4. Experimento 2. Porcentagens de viabilidade e infectividade do nematoide entomopatogênico *O. Tipulae* após 48 horas de exposição ao produto Fitoneem®.

Tratamento (Dose comercial)	Viabilidade (%)	Infectividade (%)
Controle	89,9 ± 1.8 a	76,0 ± 1,3 c
Neem 50%	12,5 ± 1.5 b	74,0 ± 0,5 c
Neem 100%	11,9 ± 3.2 b	48,0 ± 0,8 b
Neem 200%	7,9 ± 3.7 b	16,0 ± 0,5 a
CV (%)	9,05	18,93

Fonte: Autora (2024). Média ± Desvio padrão, seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

O isolado UENP6 apresentou incompatibilidade com as concentrações de 50%, 100% e 200%, quais reduziram significativamente sua viabilidade e infectividade. Após 48 horas de exposição às concentrações do produto, os valores de viabilidade variaram entre 12% a 16% (Tabela 5). No que diz respeito à infectividade dos NEPs, os resultados indicaram que as diferentes concentrações causaram um efeito adverso, especialmente na concentração de 200%, onde a porcentagem de infectividade foi de apenas 4%. Os valores para as concentrações de 50% e 100% se mostraram estatisticamente iguais, com uma média de infectividade superior a 50% mesmo após exposição ao produto.

A infectividade de ambos os isolados de nematoides testados para o tratamento controle variou entre 58 e 86%, essa variação ocorre devido à individualidade biológica de cada espécie, em que a qualidade e virulência dos JIs podem apresentar resultados discrepantes. O nematoide *H. amazonensis* apresentou um valor levemente superior no

parâmetro de viabilidade, quando exposto às concentrações de 50%, 100% e 200% comparado a espécie *O. tipulae*. Para o parâmetro de infectividade, o isolado *O. tipulae* quando exposto às concentrações de 50% e 200%, apresentou uma maior capacidade de infecção comparado a *H. amazonensis*. Contudo, na concentração de 100% *H. amazonensis* apresentou porcentagem superior. A sensibilidade das espécies de nematoide varia devido às alterações nas características biológicas de cada uma, tornando-as, portanto, mais ou menos resistentes aos efeitos nocivos de determinados produtos (Zasada e Ferris, 2004). A entomopatogenicidade dos nematoides *Oscheius* é menos frequente em comparação com *Steinernema* e *Heterorhabditis* pois não há uma relação simbiótica obrigatória, dependendo exclusivamente da presença das bactérias entomopatogênicas associadas (Torrini *et al.*, 2015; Ye *et al.*, 2018), principalmente as do gênero *Serratia* (Sugiyama *et al.*, 2023).

Tabela 5. Experimento 3. Porcentagens de viabilidade e infectividade do nematoide entomopatogênico *H. amazonensis* após 48 horas de exposição ao produto Fitoneem®.

Tratamento (Dose comercial)	Viabilidade (%)	Infectividade (%)
Controle	97,3 ± 1.1 a	86,0 ± 1,1 a
Neem 50%	16,9 ± 10.5 b	54,0 ± 2,5 b
Neem 100%	14,8 ± 6.1 b	50,0 ± 2,0 b
Neem 200%	12,7 ± 7.4 b	04,0 ± 0,5 c
CV (%)	20,21	33,49

Fonte: Autora (2024). Média ± Desvio padrão, seguidas de mesma letra, nas colunas, não diferem entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade.

Resultados semelhantes foram encontrados por Rohde *et al.* (2013) onde observaram que os extratos dos frutos, ramos e folhas de cinamomo, da mesma família do neem (Meliaceae), na proporção de 40% p/v foram incompatíveis com o nematoide *Heterorhabditis* sp. JPM4, apresentando uma viabilidade inferior a 4% e infectividade reduzida em 86% após 48 horas de exposição ao produto, que se demonstrou nocivo e incompatível ao uso conjunto. De forma semelhante, em estudo realizado por Dias (2020) com produto comercial Azamax®, cujo ingrediente ativo é a azadiractina, indicou que o pesticida foi levemente tóxico para a espécie *H. amazonensis*, o qual reduziu levemente a viabilidade e drasticamente a capacidade infectiva do nematoide, contudo, não se mostrou tóxico ao parâmetro de viabilidade aos isolados da espécie *Steinernema*. O Azamax® tem registro no Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, para controle do nematoide fitopatogênico *M. incognita* na cana-de-açúcar sendo considerado um produto nematicida na classificação, entretanto,

pode-se observar que dependendo das concentrações utilizadas pode haver um resultado sinérgico no uso combinado com NEPs.

Contrastante a isso, de acordo com as pesquisas de Mahmoud *et al.* (2007), a maioria das combinações testadas no estudo resultou em respostas sinérgicas com NeemAzal T® na concentração de 5%, em testes de compatibilidade com o nematoide entomopatogênico *S. feltiae*. Analogamente,, Sabino *et al.* (2014) observou os efeitos do óleo de neem sobre heterorhabditídeos e constatou que em todos os tratamentos a viabilidade foi mantida em cerca de 100% para a quantidade de 2000 JIs/mL, sendo assim, as concentrações testadas de 1, 2, 3 e 4% mostraram-se inócuas à espécie, além disso, foram capazes de induzir o aumento da produção de JIs em comparação ao tratamento controle.

O produto Fitoneem®, que possui o mesmo ingrediente ativo dos produtos testados na bibliografia citada, é um inseticida do grupo dos Tetranortriterpenóides e sua forma de ação atua na inibição da alimentação dos insetos, afeta o desenvolvimento e comportamento das larvas, o que retarda o crescimento e reduz a fecundidade e fertilidade dos adultos, causando diversas anomalias fisiológicas (Martinez, 2011). Nesse sentido, o efeito nematicida encontrado entre as espécies da família Meliaceae pode estar relacionado à presença de substâncias comuns, como a azadiractina, meliantról e salanina (Martinez, Van Emden, 2001; Aguiar-Menezes, 2005). Algumas dessas substâncias atuam em órgãos ou moléculas específicas, interferindo em processos endócrinos, estágios metamórficos ou diretamente no metabolismo, inibindo a produção de energia. Outras por sua vez, afetam a digestão ou quando em contato com o inseto, são absorvidas pela cutícula resultando em morte rápida.

Em estudos de Rodrigues *et al.* (2013), o óleo de neem, quando aplicado via solo, reduziu em cerca de 40% a população de nematoides fitopatogênicos no cultivo de tomate. De maneira semelhante, Chaves *et al.* (2009) observaram que o óleo de neem a 2%, aplicado em solo arenoso naturalmente infestado de *P. zaeae*, resultou na redução de 56,8% no nível populacional do nematoide na cultura da cana-de-açúcar. Além disso, a alta taxa de inviabilidade dos NEPs e a redução de infectividade observada nas larvas de *T. molitor*, infectadas pelas duas espécies de nematoides utilizadas no presente trabalho, sugerem que esses efeitos tóxicos também podem ser detectados nos nematoides entomopatogênicos. Dessa forma, com base na literatura, pode-se dizer que concentrações de até 4% de azadiractina são menos invasivas aos NEPs, tornando-as mais promissoras em termos de compatibilidade. Contudo, devido ao produto comercial à base de óleo de neem possuir uma concentração já estabelecida que garante sua eficácia, é evidente que existem desafios a serem superados para a utilização das ferramentas de controle, em conjunto.

CONCLUSÃO

Foi possível identificar que não houve viabilidade e infectividade de ambas as espécies de nematoides entomopatogênicos após exposição às diferentes concentrações do inseticida botânico à base de óleo de neem. O isolado *O. tipulae* apresentou incompatibilidade com o produto nas concentrações de 5%, 25%, 50%, 100% e 200% as quais reduziram significativamente sua viabilidade e infectividade. O mesmo ocorreu com o isolado *H. amazonensis* nas concentrações de 50%, 100% e 200%.

REFERÊNCIAS

AGUIAR-MENEZES, E. de L. Inseticidas botânicos: seus princípios ativos, modo de ação e uso agrícola. **Embrapa Agrobiologia**, 2005.

ALMENARA, D. P. *et al.* Entomopathogenic nematodes: two sides of a symbiosis. **Revista da Biologia**, v. 6, n. 2, 2011.

CAMPOS-HERRERA, R. Nematode pathogenesis of insects and other pests. **Ecology and applied technologies for sustainable plant and crop protection. Switzerland: Springer International Publishing**, 2015.

CHAVES, A. *et al.* Utilização de Produtos Alternativos no Manejo de Nematoides da Cana-de-açúcar no Estado de Pernambuco. **Nematologia brasileira**, v. 33, n. 3, 2009.

CICHE, T. A.; ENSIGN, J. C. For the insect pathogen *Photorhabdus luminescens*, which end of a nematode is out?. **Applied and environmental microbiology**, v. 69, n. 4, 2003.

DIAS, S. da C. **Potencial de nematoides entomopatogênicos no controle de *Drosophila suzukii* e compatibilidade com inseticidas**. 2020. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Pelotas.

ISMAN, M. B. Botanical insecticides in the twenty-first century — fulfilling their promise?. **Annual Review of Entomology**, v. 65, 2020.

KOUL, O. *et al.* (Ed.). **Neem: today and in the new millennium**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2004.

MAHMOUD, M. F. *et al.* Combining the botanical insecticides NSK extract, NeemAzal T 5%, Neemix 4.5% and the entomopathogenic nematode *Steinernema feltiae* Cross N 33 to control the peach fruit fly, *Bactrocera zonata* (Saunders). **Plant protection science-prague**, v. 43, n. 1, 2007.

MARTINEZ, S. S.; VAN EMDEN, H. F. Growth disruption, abnormalities and mortality of *Spodoptera littoralis* (Boisduval) (Lepidoptera:Noctuidae) caused by azadirachtin. **Neotropical Entomology**, v. 30, 2001.

MARTINEZ, S. S. O nim: *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção. In: **O NIM: *Azadirachta indica*: natureza, usos múltiplos, produção**, 2011.

PIMENTEL, D. Environmental and economic costs of the application of pesticides primarily in the United States. **Environment, development and sustainability**, v. 7, 2005.

POTRICH, T. D. *et al.* Metodologia de criação de *Tenebrio molitor* em laboratório para obtenção de larvas. **Passo Fundo (RS): Embrapa Trigo. Documentos Online**, v. 82, 2007.

R CORE TEAM (2022). R: A language and environment for statistical computing. **R Foundation for Statistical Computing**, Vienna, Austria.

RIBAS, P. P.; MATSUMURA, A. T. S. A química dos agrotóxicos: impacto sobre a saúde e meio ambiente. **Revista Liberato**, v. 10, n. 14, 2009.

RODRIGUES, H. *et al.* Manejo integrado das principais doenças do tomateiro, *Solanum lycopersicum*. **ENCICLOPEDIA BIOSFERA**, v. 9, n. 17, 2013.

ROHDE, C. *et al.* Compatibilidade de nematoides entomopatogênicos e extratos vegetais aquosos visando o controle da mosca-das-frutas *Ceratitis capitata* (Wiedemann) (Diptera: Tephritidae). **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina. v. 34, n. 3, 2013.

SABINO, A. R. *et al.* Utilização de nematoides entomopatogênicos (Nematoda:Rhabditida) e Inseticidas botânicos visando ao controle de adultos de *Rhynchophorus palmarum* L. 1764 (Coleoptera: Curculionidae). 2014.

SCHALLER, A. **Induced plant resistance to herbivory**. Hardeover: Springer, 2008.

SERRA, L. S. *et al.* Revolução Verde: reflexões acerca da questão dos agrotóxicos. **Revista Científica do Centro de Estudos em Desenvolvimento Sustentável da UNDB**, v. 1, n. 4, 2016.

SUGIYAMA, T. *et al.* Exploring the pathogenicity of *Oscheius* sp. KHA501 and its potential in association with entomopathogenic bacteria. **Nematological Research (Japanese Journal of Nematology)**, v. 53, n. 12, 2023.

TORRINI, G. *et al.* *Oscheius onirici* sp. (Nematoda: Rhabditidae): a new entomopathogenic nematode from an Italian cave. **Zootaxa**, v. 3937, n. 3, 2015.

VENDRAMIM, J. D.; CASTIGLIONI, E. Aleloquímicos, resistência de plantas e plantas inseticidas. In: GUEDES, J.C.; COSTA, I.D.; CASTIGLIONI, E. (Org). **Bases e técnicas do manejo de insetos**. Santa Maria: Pallotti, 2000.

VENZON M.; ROSADO M. C.; PALLINI A.; FIALHO A.; PEREIRA C. J. Toxicidade letal e subletal do nim sobre pulgão verde e seu predador *Eriopis connexa*. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 42, n. 5, 2007.

WHITE, G. F. A method for obtaining infective nematode larvae from cultures. **Science**, v. 66, n. 1709, 1927.

YE, W. *et al.* Incidence of (Nematoda: Rhabditidae) a potentially entomopathogenic nematode from the marshlands of Wisconsin, USA. **Journal of Nematology**, v. 50, n. 1, 2018.

ZASADA, I. A.; FERRIS, H. Nematode suppression with brassicaceous amendments: application based upon glucosinolate profiles. **Soil Biology and Biochemistry**, v. 36, n. 7, 2004.