

POTENCIAL ACARICIDA DO EXTRATO ENZIMÁTICO DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DO ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS

Thiago Nieiro Cuzzuol¹, Kristiélen Jeniffer Abreu Mageste¹, Ana Clara Bayer Bernabé¹, Ana Beatriz Mamedes Piffer², Selma Garcia Holtz¹, Ronilda Lana Aguiar¹, Anderson Mathias Holtz¹

¹Instituto Federal do Espírito Santo/Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Trecho Colatina X Baixo Guandu, Distrito de Itapina, Zona Rural, 29717-000-ES, Brasil, thiagonieiroc12@gmail.com, krisjeniffermageste@outlook.com, bayerbernabea@gmail.com, selma.holtz@ifes.edu.br, ronilda.aguiar@ifes.edu.br, anderson.holtz@ifes.edu.br.

²Universidade Federal do Espírito Santo, 29075-910, Alegre, Espírito Santo, Brasil, ana.piffer123@gmail.com.

Resumo

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), é uma espécie invasiva e de ataque severo. Possui hábito alimentar fitófago e seus danos à cultura podem causar perdas na produtividade. Foi relatado atacando coqueiros e plantas de banana, embora não seja praga principal. A aplicação de defensivos químicos em demasia têm ocasionado danos ao meio ambiente e desenvolvendo espécies resistentes. A utilização de fungos entomopatogênicos surge como alternativa à utilização de defensivos químicos, diante disso, objetivou-se avaliar a eficiência do bioacaricida enzimático a partir de *Beauveria bassiana* no controle de fêmeas adultas de *R. indica*. Para o bioensaio foram utilizados 10 fêmeas adultas de *R. indica*. As concentrações utilizadas foram 0; 0,5; 1,0; 2,0 e 3,0% de extrato e água destilada como testemunha. A mortalidade dos ácaros foi avaliada 24, 48 e 72 horas após a aplicação do extrato. Conclui-se que o extrato enzimático de *B. bassiana* apresentou potencial bioacaricida em condições de laboratório, podendo ser utilizado no manejo de *R. indica*.

Palavras-chave: Controle biológico. Entomopatógenos. *Raoiella indica*.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônômica - agronomia

Introdução

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* Hirst (1924) (Acari: Tenuipalpidae), foi relatado pela primeira vez no continente americano no ano de 2004, dispersando-se rapidamente pela América Central e do Sul. No Brasil foi relatado primeiramente no Estado de Roraima em folhas de coco e bananeira (SANTOS *et al.*, 2020; CASTRO *et al.*, 2021; NUVOLONI *et al.*, 2021). No estado do Espírito Santo, esta espécie praga foi encontrada em coqueiros e tamareira pigmeu (*Phoenix roebelenii* O'Brien), nos municípios de Guarapari, Vila Velha e Vitória (MARSARO JÚNIOR *et al.*, 2018; BARROSO *et al.*, 2019).

Esta praga possui hábito polífago e geralmente se alimentam na face abaxial das folhas, causando amarelecimento, manchas escuras e dessecamento das folhas. Em populações elevadas esta espécie pode promover ataques severos e danos significativos, podendo causar a morte de coqueiros novos tanto no viveiro ou no campo e acarretar uma redução de 90% da produtividade (OCHOA *et al.*, 2011; NAVIA *et al.*, 2016). Além de encontrada em cerca de diferentes famílias de coqueiros ornamentais (Arecaceae, Heliconiaceae, Strelitziaceae, Zingiberaceae e Pandanaceae), esta espécie de ácaro ainda tem sido relatada em plantas do gênero Musaceae, família das bananeiras (*Musa* spp.) (PINHEIROS; VASCONCELOS, 2020).

Uma alternativa que tem sido utilizada para o manejo de *R. indica* é o ácaro predador *Neoseiulus barkeri* Hughes (Acari: Phytoseiidae), um produto biológico, que tem apresentado significativo desempenho no controle deste organismo praga (FILGUEIRAS *et al.*, 2020; AGROFIT, 2024). Nesse contexto, espécies de fungos entomopatogênicos como *Metarhizium anisopliae*, *Beauveria bassiana* e

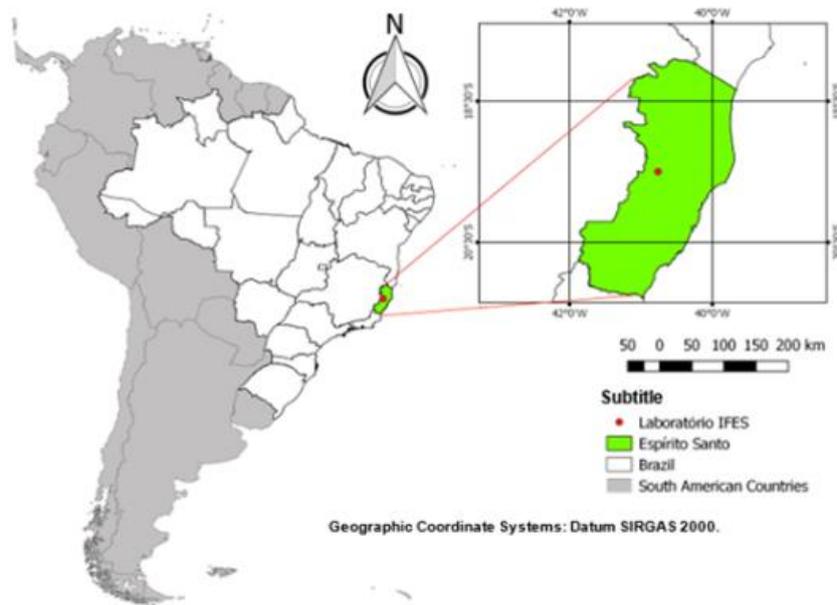
Verticillium lecanii têm sido estudadas no controle de diferentes espécies de pragas pertencentes ao filo Arthropoda, isso pela capacidade de secretarem metabólitos secundários no processo de infecção de insetos/ácaros (AMUTHA; GULSAR BANU, 2017).

Diante disso, objetivou-se avaliar com o presente trabalho o potencial bioacaricida do extrato enzimático a partir de *B. bassiana* no controle de fêmeas adultas de *R. indica*.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola e no complexo de laboratórios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - *Campus Itapina* (IFES-*Campus Itapina*), localizado no município de Colatina, com coordenadas de 19°29'52.7" S 40°45'38.5"W (Figura 1).

Figura 1: Localidade do sítio de pesquisa.



Fonte: Adaptado de MARCHIORI *et al.*, 2023.

Criação e manutenção do ácaro vermelho das palmeiras *R. indica*

A criação do ácaro foi realizada em mudas de coqueiro anão (*Cocos nucifera* L.), plantadas em vasos de 5 litros, utilizando-se terra e esterco de curral curtido e mantidas em casa de vegetação, no setor de Horticultura do IFES – *Campus Itapina*. Para infestação inicial, folíolos infestados com *R. indica* foram colocados em contato com mudas de coco anão (PINHEIRO; VASCONCELOS, 2020). Quando as plantas apresentaram sintomas de alta infestação pelos ácaros, como amarelecimento e necrose foliar, estas foram colocadas junto a plantas saudáveis para que os ácaros colonizassem outra planta e a criação fosse continuada. As mudas foram irrigadas com auxílio de um sistema de gotejamento automatizado e os tratamentos culturais foram realizados conforme a necessidade. Não foram utilizados produtos químicos para controle de pragas e doenças.

Produção enzimática

As culturas foram obtidas a partir do isolamento e repicagem da ressuspensão de conídios do formulado comercial Boveril®. Os conídios foram ressuspensos em água destilada esterilizada. Os processos foram realizados em cabine de segurança biológica, sob condições estéreis.

A partir da cultura pura, inoculou-se em tubos de ensaio contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA) e posteriormente, após o crescimento realizou-se a ressuspensão. Retirou-se uma alíquota e inoculou

em frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo arroz polido esterilizado para aumentar a esporulação do fungo. Como substrato sólido foi utilizado farelo de trigo, sem preferência por marca específica. Em frascos Erlenmeyer (125 mL) foram adicionados o substrato sólido, solução de meio mínimo composto por NH_4NO_3 , 1,0; KH_2PO_4 , 1,5; MgSO_4 , 0,5; CuSO_4 , 0,25 e extrato de levedura, 2,0, em g/L, e suspensão de conídios. *B. bassiana* foi cultivada sob fermentação em estado sólido para produção de extrato enzimático.

O cultivo foi mantido em BOD a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e 24 horas de escuro, por 5 dias. Com o cultivo fermentado, adicionou-se água destilada aos frascos (1:10 p/v) para isolamento das enzimas secretadas, centrifugou-se e extraiu-se o sobrenadante como extrato (Em processo de patente).

Bioensaio

Cada unidade experimental foi composta por placas de Petri (10,0 x 1,2cm) contendo em seu interior folíolos de palmeiras com 6 cm de comprimento. Folíolos de palmeiras foram obtidos de plantas da própria estufa do IFES- Campus Itapina, os quais foram sanitizados com solução sanitizante Startclor® 0,5% por 10 minutos. As diluições de 0,5; 1; 2 e 3% v/v foram preparadas a partir de um extrato cuja concentração era 100%. Para cada tratamento foram realizadas 6 repetições, contendo 10 fêmeas adultas de *R. indica* por repetição totalizando 60 indivíduos por tratamento. A pulverização foi realizada utilizando um aerógrafo modelo Alfa 2, conectado a um compressor calibrado com pressão constante de 1.3 psi e 2 mL de solução para cada repetição. Para o tratamento controle utilizou-se somente água destilada. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. O efeito bioacaricida foi avaliado 24, 48 e 72 horas após as pulverizações.

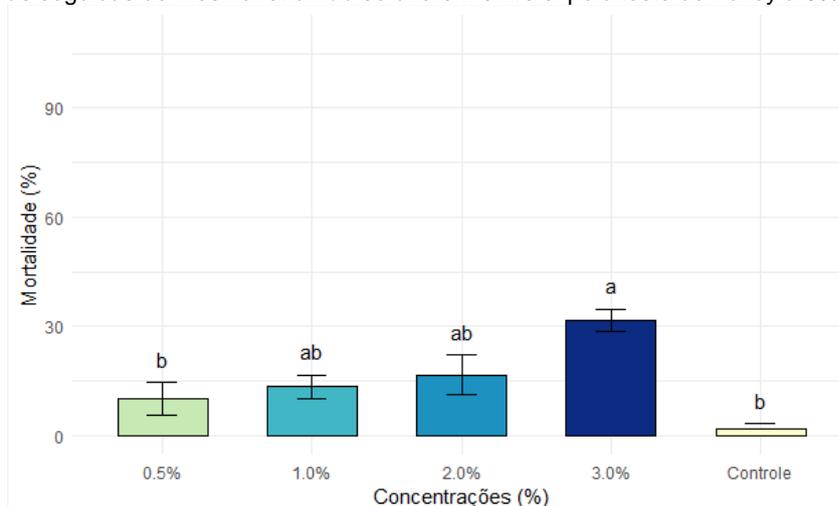
Análise estatística

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado (DIC). Os dados obtidos foram submetidos ao teste de Tukey para comparar as médias a 5% de significância. Os dados da mortalidade foram corrigidos pela fórmula de ABBOTT *et al.* (1925). Os gráficos foram gerados com auxílio do programa estatístico R versão 4.2.3 (R CORE TEAM, 2023).

Resultados

O teste de toxicidade dos extratos mostrou que à medida que se aumenta a concentração do extrato, ocorre o aumento da mortalidade das fêmeas de *R. indica* (Figura 1).

Figura 2 – Mortalidade cumulativa da população total de *Raoiella indica* pelo extrato enzimático de *Beauveria bassiana*. Médias seguidas de mesma letra não se diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.



Fonte: Os autores (2023).

O extrato enzimático de *B. bassiana* cultivado em farelo de trigo, por 5 dias, mostrou efeito tóxico em fêmeas adultas de *R. indica*. Nota-se que o aumento da concentração do extrato enzimático proporcionou o aumento da mortalidade, de modo que as médias de mortalidade obtidas, com exceção da concentração de 0,5%, foram superiores aquelas do tratamento controle. A concentração de 3,0% apresentou 30% de mortalidade, mas esta concentração não diferiu estatisticamente das concentrações 2,0% e 1,0%.

Discussão

A fermentação em estado sólido (FES) é uma alternativa na produção de extratos microbianos pelo fato das condições de cultivo ser similar ao ambiente natural de ocorrência do organismo em questão. Desse modo, fungos entomopatogênicos têm sido utilizados no controle biológico pela capacidade que desenvolveram ao estilo de parasitarem seus hospedeiros, desempenhando papel fundamental na mortalidade de insetos e aracnídeos (HUMBER, 2008; BOOSMSMA *et al.*, 2014; MASCARIN; JARONSKI, 2016).

A mortalidade de *R. indica* pode estar associada a forma de infecção do fungo no artrópode-praga, o que vem de encontro com KHACHATOURIANS (1996), que descreveu que os fungos entomopatogênicos infectam os insetos por adesão dos conídios à cutícula protetora com subsequente penetração no inseto devido à secreção de enzimas extracelulares, como quitinases, proteases e lipases, e pressão mecânica exercida pelas estruturas de reprodução dos conídios. Semelhantemente ISLAM *et al.* (2023), afirmaram ao analisar o potencial de biocontrole de isolados nativos de *B. bassiana* sobre *Spodoptera litura* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae), que as larvas que foram infectadas pelo fungo apresentaram redução da mobilidade e deformações, impedindo até que progredissem de estágio de desenvolvimento, provavelmente pela ação das enzimas produzidas no processo de colonização do fungo.

O tipo de substrato sólido utilizado na fermentação pode ser fator determinante nas proteínas produzidas. ALVES (2023) notou que os extratos obtidos a partir do substrato fermentado por *Metarhizium anisopliae* (Hypocreales: Clavicipitaceae) à base de farelo de trigo e pó de tenébrio apresentaram teor de proteínas totais superior aos extratos produzidos apenas com farelo de trigo, sendo que o mesmo foi testado sobre fêmeas adultas de ácaro rajado *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), apresentando atividade acaricida pela produção de lipases e proteases.

Conclusão

O extrato enzimático de *B. bassiana* cultivado em farelo de trigo, com 5 dias de cultivo, apresentou potencial bioacaricida sobre fêmeas adultas de *R. indica*.

Referências

ABBOTT, W. S.; *et al.* Um método para calcular a eficácia de um inseticida. **Journal Economic of Entomology**, v. 18, n. 2, pág. 265-267, 1925.

AGROFIT. Consulta de praga. Disponível em:
>http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons < Acesso 21 fev. 2024.

ALVES, A. G. Atividade acaricida de extratos enzimáticos a base de *Metarhizium anisopliae* (HYPOCREALES: CLAVICIPITACEAE) sobre *Tetranychus urticae* (KOCH, 1836) (ACARI: TETRANYCHIDAE). 2023.

AMUTHA, M.; GULSAR BANU, J. Variation in Mycosis of Entomopathogenic Fungi on Mealybug, *Paracoccus marginatus* (Homoptera: Pseudococcidae). **Proceedings of the National Academy of Sciences India Section B - Biological Sciences**, v.87, n.2, 343–349, 2017.
<https://doi.org/10.1007/s40011-015-0624-8>

BARROSO, G.; *et al.* What is the southern limit of the distribution of red palm mite, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae), in agricultural lands in Brazil?. **Florida Entomologist**, v. 102, n. 3, p. 581-585, 2019.

BOOMSMA, J. J.; *et al.* Evolutionary interaction networks of insect pathogenic fungi. **Annual Review of Entomology**, v. 59, p. 467-485, 2014.

CASTRO, E.B.; *et al.* Tenuipalpidae Data base, 2021. Disponível em: ><http://www.tenuipalpidae.ibilce.unesp.br><. Acesso em: 21 fev. 2024.

FILGUEIRAS, R. M. C.; *et al.* *Neoseiulus barkeri* Hughes (Acari: Phytoseiidae) as a potential control agent for *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae). **Systematic and Applied Acarology**, v. 25, n. 4, p. 593-606, 2020.

HUMBER, R. A. Evolution of entomopathogenicity in fungi. **Journal of invertebrate pathology**, v. 98, n. 3, p. 262-266, 2008.

ISLAM, S. M. N.; *et al.* Biocontrol potential of native isolates of *Beauveria bassiana* against cotton leafworm *Spodoptera litura* (Fabricius). **Scientific Reports**, v. 13, n. 1, p. 8331, 2023.

KHACHATOURIANS, G. G. Biochemistry and molecular biology of entomopathogenic fungi. In: **Human and animal relationships**. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 1996. p. 331-363.

MARSARO JÚNIOR, A.L., *et al.* First report of the red palm mite, *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) in Espírito Santo state, Brazil. **Cientific Notes Revista Científica Intelletto**, v.3, n. 2, p.21-25, 2018.

MASCARIN, G. M.; JARONSKI, S. T. The production and uses of *Beauveria bassiana* as a microbial insecticide. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 32, p. 1-26, 2016.

NAVIA, D.; *et al.* Spatial forecasting of red palm mite in Brazil under current and future climate change scenarios. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 51, n. 5, p. 586-598, 2016.

NUVOLONI, F. M.; *et al.* First report of damage and population dynamics of *Raoiella indica* Hirst (Acari: Tenuipalpidae) on *Euterpe oleracea* (Arecaceae) in the State of Bahia, Brazil. **Systematic and Applied Acarology**, v. 26, n. 9, p. 1769-1775, 2021.

OCHOA, R.; *et al.* Herbivore exploits chink in armor of host. **American Entomologist**, v. 57, n. 1, p. 26-29, 2011.

PINHEIRO, E. C.; VASCONCELOS, G. J. N. Efeito letal de extratos de piperáceas ao ácaro-vermelho-das-palmeiras, *Raoiella indica*: Acari, Tenuipalpidae. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 15, n. 3, p. 229-238, 2020.

SANTOS, J.R.; *et al.* Mortalidade de *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae) sob ação, in vitro, de acaricidas. **Research, Society and Development**, v. 9, n. 9, p., 2020.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo a Pesquisas no Espírito Santo (Fapes), ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e ao Instituto Federal do Espírito Santo (IFES).