

***Beauveria bassiana* COMO BIOACARICIDA ENZIMÁTICO: EFEITOS SOBRE A *Raoiella indica* EM DIFERENTES DOSAGENS**

Eduarda Carriço¹, Caio Henrique Binda de Assis², Anderson Mathias Holtz¹, Gustavo Pazolini Stein¹, Thiago Nieiro Cuzzuol¹, Thiago Rodrigues Dutra¹, Patrícia Soares Furno Fontes¹

¹Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo, Campus Itapina, 29717-000, Colatina-ES, Brasil, E-mail: eduardacarrico41603@gmail.com, anderson.holtz@ifes.edu.br, gustavo.stein@estudante.ifes.edu.br, thiagonieiroc12@gmail.com, thiago.r.dutra@hotmail.com, patricia.fontes@ifes.edu.br

²Universidade Federal de Viçosa, 36570-900 - Viçosa-MG, Brasil, caio.binda.assis@gmail.com.

Resumo

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica*, é uma espécie invasiva e altamente destrutiva que ameaça palmeiras e bananeiras. Devido à escassez de produtos químicos sintéticos registrados para seu controle, métodos alternativos como enzimas de fungos entomopatogênicos são vantajosos. Este estudo investigou o potencial acaricida de extratos enzimáticos de *Beauveria bassiana* em diferentes concentrações (0%, 25%, 50%, 75%, 100%) sobre o ácaro vermelho das palmeiras. Conídios de *B. bassiana* foram obtidos e cultivados em meio sólido. Após 7 dias, o substrato foi coado e centrifugado, resultando no extrato enzimático. Os extratos foram aplicados sobre 12 ácaros usando aerógrafo. As concentrações de 75% e 100% mostraram eficiência, proporcionando mortalidade significativa dos ácaros em três dias. Esse efeito é atribuído a proteases e lipases no extrato, destacando sua eficiência no controle da praga.

Palavras-chave: Enzimas, extrato, entomopatogênicos.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica.

Introdução

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Prostigmata: Tenuipalpidae), é uma espécie invasora e com potencial destrutivo, sendo considerada uma das principais pragas do coqueiro (*Cocos nucifera* L.) no Brasil (Holtz *et al.*, 2024). Seu comportamento é polífago, e este ácaro também ataca outras palmeiras, incluindo as ornamentais, além de bananeiras, infestando atualmente cerca de 100 espécies, principalmente monocotiledôneas da família *Aracaceae* (Barroso, 2019; Sousa Neto *et al.*, 2021). Ao se alimentar do tecido das folhas, esse ácaro reduz o potencial fotossintético da planta, podendo levar plantas jovens à morte e diminuir significativamente a produtividade das plantas adultas (Carrillo *et al.*, 2012).

No Brasil, o primeiro relato de *R. indica* ocorreu em 2009 no estado de Roraima, espalhando-se rapidamente pelo território nacional e parasitando diferentes hospedeiros (Barroso, 2019). No Espírito Santo, essa praga foi detectada na região litorânea em 2018, infestando coqueiros e tamareiras-pigmeu (*Phoenix roebelenii* O'Brien) (Marsaro Júnior *et al.*, 2018). No Espírito Santo, as culturas de banana e coco in natura têm grande importância econômica e social (Incapar, 2023). Nesse contexto, *R. indica* representa uma ameaça para as lavouras capixabas, que são conduzidas em sistema de monocultivo e estão estabelecidas em regiões de clima favorável para o desenvolvimento dessa praga. Em outros países, o controle de *R. indica* é realizado com produtos químicos de alta toxicidade (Rodrigues e Peña, 2012). No entanto, devido à importância agrícola de *R. indica* e à escassez de produtos registrados para seu manejo, métodos alternativos, como extratos botânicos e controle biológico com ácaros predadores e microrganismos entomopatogênicos, são promissores, pois demonstram eficiência no controle de espécies de ácaros pragas (Fernández *et al.*, 2016; Freitas *et al.*, 2021).

O uso de bioacaricidas à base de fungos entomopatogênicos tem uma longa história, apresentando alta taxa de virulência contra pragas e baixa ou nenhuma toxicidade para humanos e o meio ambiente, atuando como inseticidas e acaricidas contra diversas pragas agrícolas, como a broca da bananeira (Almeida *et al.*, 2021), cochonilhas (Borghi *et al.*, 2019), ácaro rajado (Moro *et al.*, 2020) e lepidópteros

pragas de algodão e soja (Andrade e Rangel, 2021), entre outros. A virulência dos fungos entomopatogênicos está relacionada à secreção de enzimas que degradam as estruturas dos hospedeiros durante o processo de penetração e infecção (Junior, 2011). Apesar de apresentarem alta taxa de infecção, a eficiência dos métodos de controle com esses organismos depende de microclimas específicos, incluindo alta umidade, temperatura e baixa radiação solar, o que restringe as possibilidades de executar esse manejo (Holtz *et al.*, 2024). Diante disso, formulações de enzimas e metabólitos secretados por fungos entomopatogênicos são vantajosas por não dependerem da sobrevivência do fungo no ambiente, atuando diretamente sobre o organismo alvo.

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito acaricida de extratos enzimáticos a base de *Beauveria bassiana* em diferentes concentrações sobre *R. indica* em laboratório. Para isso, foram estabelecidos três objetivos específicos: manter a criação de *R. indica* em condições laboratoriais, produzir extratos enzimáticos de *Beauveria bassiana* e avaliar a mortalidade dos adultos de *R. indica* expostos a diferentes concentrações desses extratos.

Metodologia

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Itapina (Ifes-Campus Itapina) situado no município de Colatina – ES.

Para infestação inicial, folíolos infestados com *R. indica* foram colocados em contato com as mudas de coco anão (*Cocos nucifera* L. Var. Nana) para que os indivíduos desta praga migrem para estas mudas. A manutenção da criação consistirá no cuidado com as mudas de coco atentando-se para a irrigação e exposição ao sol regularmente. Além disso, é importante sempre observar as suas condições. Quando as mudas atingirem um grau elevado de infestação ou quando estas não apresentarem boas condições (maior parte da área vegetal necrosada), os indivíduos devem ser redistribuídos para novas mudas, conforme descrição no início desse tópico.

As unidades experimentais foram compostas por placa de Petri (10,0 x 1,2 cm), contendo algodão umedecido com água destilada sobreposta com discos de folha de coqueiro com cerca de 6 cm de comprimento e 1 de largura, delimitadas por algodão umedecido para manter a turgescência da folha e evitar a fuga dos ácaros. As arenas foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., à temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. Nos bioensaios, para a obtenção dos ácaros na fase adulta, foram transferidos 40 fêmeas adultas e 2 machos para placas de Petri (14,0 x 1,5 cm) contendo algodão umedecido com água destilada sobreposta com folhas de mudas de coqueiro previamente cortadas com tamanho correspondente a placa de Petri, delimitadas por algodão umedecido para manter a turgescência da folha e evitar a fuga dos ácaros. Os ácaros foram mantidos por 24 horas, nas condições descritas anteriormente, para obtenção de ovos de mesma idade. Após esse período, os adultos foram retirados e os ovos foram mantidos em condições adequadas por aproximadamente 20 – 25 dias, tempo necessário para conclusão da fase imatura da espécie (ovo – adulto). Após esse período, 12 fêmeas adultas de *R. indica* foram transferidos para arena, montada conforme descrito anteriormente. A ocorrência de eventual mortalidade, devido ao processo de transferência, foi verificada durante um período de 2 horas, procedendo-se à reposição dos espécimes mortos antes do início da aplicação dos bioacaricidas.

Para obtenção dos extratos, conídios de *B. bassiana* foram obtidos dos produtos comerciais Boveril®. Os conídios foram ressuspensos em água destilada estéril para preparação da suspensão de esporos. As suspensões de esporos de *B. bassiana* foram adicionadas em frascos contendo 10 g de farelo de trigo e 6 mL de meio mínimo de acordo com a metodologia descrita Meyer & Wiebe (2003) para proteases, Tikhonov *et al.*, (2002) para quitinases e Oliveira (2013) para lipases, contendo os seguintes componentes: glicose (1,0 g), KH₂PO₄ (1,5 g), K₂HPO₄ (1,0 g), MgSO₄ (0,2 g), CaCl₂ (0,2 g), NaCl (0,2 g) e triptona (4,0 g) em concentrações variadas de acordo com o tratamento estatístico. Os frascos erlenmeyers contendo o inóculo fúngico cresceram em shaker com temperatura e pH controlados. Após, os extratos produzidos foram filtrados, centrifugados a 10.000 g e estocados a 4°C.

Inicialmente foi aplicada uma solução de extrato a base de *B. bassiana* para observância de 95% da mortalidade dos indivíduos adultos de *R. indica* após 24 horas de aplicação. Havendo essa observância, a concentração que promoveu 95% de mortalidade foi denominada de concentração pura, ou seja, concentração a 100%. A partir dessa concentração estabelecida foi realizadas diluições para obtenção das diferentes concentrações de extratos enzimáticos de *B. bassiana* a serem testadas sobre

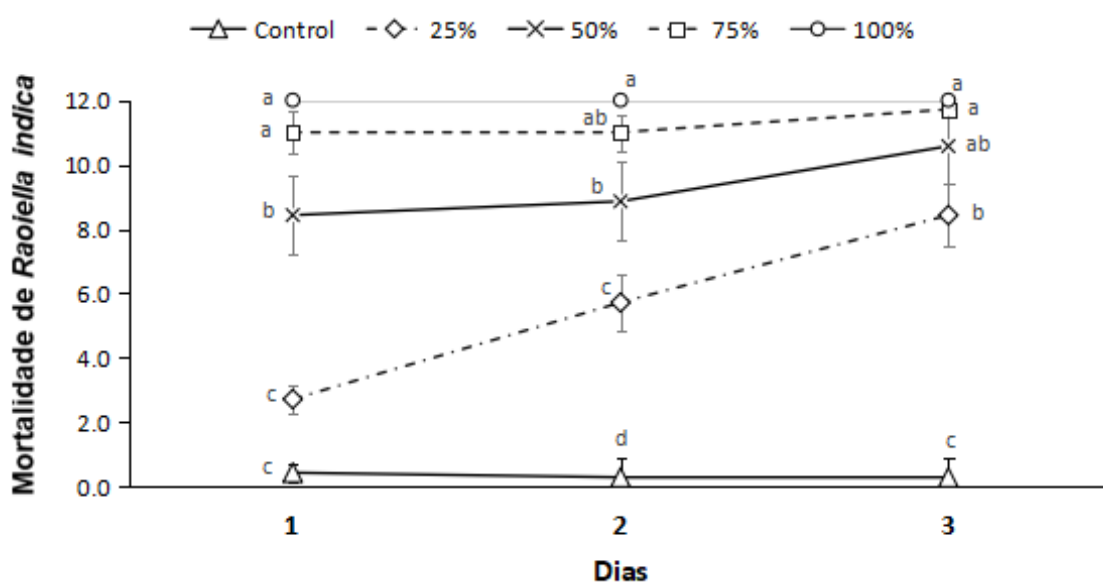
adultos de *R. indica*, testando-se as concentrações de 0 (água destilada), 25, 50, 75 e 100%. Cada tratamento foi composto por 7 repetições, com 12 indivíduos de ácaro vermelho das palmeiras por repetição. As unidades experimentais foram montadas utilizando a mesma montagem da padronização. As arenas são mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12 horas. A pulverização foi realizada utilizando um aerógrafo modelo Alfa 2, conectado a um compressor calibrado com pressão constante de 1.3 bar e 1 mL de solução de cada concentração para cada repetição. O efeito bioacaricida do extrato foi avaliado 24, 48 e 72 horas após as pulverizações.

O efeito das diferentes concentrações do extrato enzimático na mortalidade de *R. indica* foi avaliado com um modelo linear de efeitos mistos (linear mixed-effects model - LME), tendo tratamento e tempo como fatores fixos e indivíduos como fator aleatório.

Resultados

A mortalidade de *R. indica* foi significativamente afetada pela interação entre a concentração do extrato enzimático e o tempo (Figura 1, linear mixed effects model, LME: L.R. = 75.4, df = 4, $p < 0.001$).

Figura 1 - Mortalidade de *Raoiella indica* determinada por extrato enzimático a base de *Beauveria bassiana* cultivado por 7 dias, em farelo de trigo.



Fonte: autores.

O gráfico apresentado ilustra a mortalidade de *R. indica* ao longo de três dias, comparando diferentes concentrações de um tratamento (25%, 50%, 75%, 100%) com um grupo controle (água destilada). Diferenças na mortalidade dentro de cada dia de avaliação são indicadas pelas diferentes letras minúsculas (contrastes após lme, $p < 0,05$).

A mortalidade foi medida em termos percentuais, mostrando que o grupo controle manteve uma mortalidade baixa e constante, próxima de 0%, ao longo dos três dias. As concentrações de 25% e 50% apresentaram uma mortalidade inicial mais alta do que o controle, aumentando gradativamente até o terceiro dia. Os tratamentos com 75% e 100% de concentração mostraram mortalidade significativamente maior e constante, sem variação significativa ao longo dos três dias. Esses resultados indicam que as concentrações mais altas (75% e 100%) são as mais eficazes em aumentar a mortalidade de *R. indica*.

Discussão

As análises estatísticas indicam que há diferenças significativas entre as concentrações mais altas (75% e 100%) e as mais baixas (25% e controle), conforme indicado pelas letras diferentes (a, b, c, d) nos pontos do gráfico. Resultados semelhantes foram encontrados por Santana *et al.* (2023) os quais mostraram que o fungo *B. bassiana* foi eficiente no controle do ácaro da necrose *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae).

A elevada mortalidade do ácaro vermelho das palmeiras (Figura 1) podem ser atribuídas à presença de protease, quitinase e lipase no extrato, sendo necessário uma análise química para quantificação das mesmas. As proteases são reconhecidas como um dos principais fatores de patogenicidade e virulência de fungos entomopatogênicos (Litwin *et al.*, 2020). Pesquisas indicam que as proteases fúngicas não apenas auxiliam na degradação da cutícula dos hospedeiros, mas também têm a capacidade de causar toxicidade direta nesses organismos. Essas enzimas podem afetar negativamente várias vias fisiológicas e imunológicas dos hospedeiros, resultando em morte ou supressão das respostas imunológicas naturais (Zibae e Ramzi, 2018). Logo após a aderência do esporo à cutícula, as primeiras enzimas a serem produzidas são as lipases. Elas hidrolisam os lipídios e lipoproteínas da epicutícula, além de facilitarem a adesão dos esporos em germinação ao intensificarem as interações hidrofóbicas entre o fungo e a superfície da cutícula, após esse processo, o fungo começa a produzir em maior quantidade as proteases (Wiermann, 2022). Quitinases, enzimas que degradam a quitina, um biopolímero insolúvel de N-acetil-β-D-glucosamina, têm grande interesse biotecnológico. Elas podem ser usadas para converter quitina em derivados úteis e controlar fungos e insetos que causam danos às culturas agrícolas (Oliveira *et al.*, 2020).

Conclusão

O extrato enzimático derivado de *Beauveria bassiana* demonstrou elevadas taxas de mortalidade em *Raoiella indica*, especialmente nas concentrações de 75% e 100%, como indicado pelo gráfico, onde essas concentrações mantiveram-se consistentemente letais ao longo de três dias. Em contraste, as concentrações de 25% e o grupo controle mostraram as menores taxas de mortalidade. Este efeito pode ser atribuído à presença de compostos significativos no extrato, como proteases, quitinase e lipases, que desempenham um papel essencial na patogenicidade e virulência contra os organismos praga, confirmando a eficácia do extrato enzimático de *B. bassiana* no controle de ácaros.

Referências

ALMEIDA, A. M. B. *et al.* Seleção de isolados de *Beauveria bassiana* para o controle de *Cosmopolite sordidus* (Germar, 1824)(Coleoptera: Curculionidae). **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 76, p. 489-493, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v76p4892009>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

ANDRADE, E. P; RANGEL, D. E. N. Desenvolvimento do fungo entomopatogênico *Metarhizium rileyi* como agente microbiano para o manejo das principais espécies de lepidópteros nas culturas de soja e algodão: uma revisão. **Brazilian Journal of Development**, v. 7, n. 5, p. 49283-49288, 2021. Disponível em: <https://www.brazilianjournals.com/index.php/BRJD/article/view/29916>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

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. 02, n. 03, p. 581–585, 2019. Disponível em: <https://bioone.org/journals/Florida-Entomologist/volume-102/issue-3/024.102.0334/What-is-the-Southern-Limit-of-the-Distribution-of-Red/10.1653/024.102.0334.short>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

BORGHI, E. J. A. *et al.* Utilização de fungos entomopatogênicos no controle da cochonilha-roseta em cultivos de café conilon. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2019. Disponível em: <http://www.consorcioesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimpósioCafe2019/article/view/70>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

CARRILLO, D., AMALIN, D., HOSEIN, F. *et al.* Host plant range of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion of the New World. **Exp Appl Acarol**, v. 57, p. 271–289, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9487-8>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

FERNÁNDEZ, O.; SANDOVAL, M. F.; SANABRIA, M. E.; VÁSQUEZ C. Efectividad in vitro de extracto etanólico de *Cymbopogon citratus* (DL) Stapf y hexythiazox sobre *Raoiella indica* Hirst. **Idesia (Arica)**, v. 34, n. 2, p. 77-84, 2016. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-34292016005000001>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

FREITAS, G. S. *et al.* O potencial de *Beauveria bassiana* no controle de *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) e sua compatibilidade com ácaros predadores. **Proteção de Cultivos**, v. 149, p. 105776, 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105776>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

HOLTZ, F. G. *et al.* Efficiency of *Citrus limon* L. ripe peel extract in the control of *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Prostigmata: Tenuipalpidae). **Environmental & Social Management Journal/Revista de Gestão Social e Ambiental**, v. 18, n. 9, 2024. Disponível em: <https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&profile=ehost&scope=site&authtype=crawler&jrnl=1981982X&AN=177983209&h=E4wxbsBy1%2FvBxB9F%2B%2BR1KoLTPicfR5pYPeUyzLOBU2uxo9OjFnxoMMkJo2Py7BHpA1zPUQXzpZdw0CspANjA%3D%3D&crl=c>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

Instituto Capixaba De Pesquisa, Assistência Técnica E Extensão Rural (Incaper). **Polos de fruticultura-banana**. Disponível em: <https://incaper.es.gov.br/fruticulturabanana>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

Instituto Capixaba De Pesquisa, Assistência Técnica E Extensão Rural (Incaper). **Polos de fruticultura-coco**. Disponível em: <https://incaper.es.gov.br/fruticultura-coco>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

JUNIOR, M. E. Controle biológico de insetos pragas. (IFF Guarus, Ed.) I Seminário Mosaico: Olhares Sobre O Ambiente. **Anais Campos dos Goytacazes** - RJ: 2011. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/277129057>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

LITWIN, A.; NOWAK, M.; RÓŻALSKA, S. Fungos entomopatogênicos: aplicações não convencionais. **Resenhas em Ciência Ambiental e Bio/Tecnologia**, v. 1, pág. 23-42, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-020-09525-1>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

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. Disponível em: [https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1101597/1/ID444262018v3n2p21Intellett o.pdf](https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/1101597/1/ID444262018v3n2p21Intellett%20o.pdf). Acesso em: 09 Jul. 2024.

MEYER, W. J.; WIEBE, M. G. Produção de enzimas pelo fungo capturador de nematóides, *Duddingtonia flagrans*. **Cartas de biotecnologia**, v. 25, p. 791-795, 2003. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1023580621840>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

MORO, L. B. *et al.* Potencial do uso de fungos entomopatogênicos no controle de *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) em mamoeiro: efeito de cultivares sobre a patogenicidade. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 78, p. 267-272, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/1808-1657v78p2672011>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

OLIVEIRA, C.; SALES, L. S.; FREIRE, J. E. Modelagem Estrutural de uma Quitinase (GH19) de Melão e Análise de Docking Molecular com N-Acetil-β (1-4)-D-Glicosamina. **Revista Arquivos Científicos (IMMES)**, v. 3, n. 1, p. 162-171, 2020. Disponível em: <http://arqcientificosimmes.emnuvens.com.br/abi/article/view/351>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

OLIVEIRA, M. A. de C.; PEREIRA, I. C. Atributos essenciais da atenção primária e a estratégia saúde da família. **Revista brasileira de enfermagem**, v. 66, p. 158-164, 2013. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/reben/a/5XkBZTcLysW8fTmnXFMjC6z/>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

RODRIGUES, J.C.V., PEÑA, J.E. Chemical control of thered palm mite, *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in banana and coco nut. **ExpApplAcarol**, v. 57, p. 317–329, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10493-011-9493-x>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

SANTANA, S. F. *et al.* Potencial do fungo *Beauveria bassiana* no controle do ácaro-da-necrose *Aceria guerreronis* (Acari: Eriophyidae). **Scientia Plena**, v. 19, n. 9, 2023. Disponível em: <https://scientiaplenua.org.br/sp/article/view/7104>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

SOUSA NETO, E.P; SOUZA, I.V; GUZZO, E.C; MELO, J.W.S. Carnaúba [*Copernicia prunifera* (Miller) HE Moore, Arecaceae], uma nova hospedeira de *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae). **Comunicações Entomológicas**, v. 3, p. ec03045, 8 de dezembro de 2021. Disponível em: <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec03045>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

TIKHONOV, V. E. *et al.* Purification and characterization of chitinases from the nematophagous fungi *Verticillium chlamydosporium* and *V. suchlasporium*. **Fungal Genetics and Biology**, v. 35, n. 1, p. 67-78, 2002. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S108718450191312X>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

WIERMANN, I. S. De M. **Metabólitos Com Atividade Inseticida Produzidas Por Fungos Entomopatogênicos**. Trabalho de Conclusão de Curso. 32p. Universidade Federal De São João Del-Rei Curso De Graduação Em Biotecnologia. São João Del Rei - MG , 2022. Disponível em: <https://www.ufsj.edu.br/portal2repositorio/File/cobit/TCC/TCCs%20Defendidos/TCC%20Isabela%20Wiermann.pdf>. Acesso em: 09 Jul. 2024.

ZIBAE, A.; RAMZI, S. Proteases que degradam a cutícula de fungos entomopatogênicos: Da bioquímica ao desempenho biológico. **Arquivos de Fitopatologia e Proteção Vegetal**, v. 51, n. 13-14, pág. 779-794, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03235408.2018.1519875>. Acesso em: 09 Jul. 2024.