

## BIOACARICIDA ENZIMÁTICO A BASE DE *BEAUVERIA BASSIANA* NO MANEJO DO ÁCARO RAJADO

Ana Clara Bayer Bernabé<sup>1</sup>, Matheus de Paula Gomes<sup>1</sup>, Thiago Nieiro Cuzzuol<sup>1</sup>, Thiago Rodrigues Dutra<sup>1</sup>, Patrícia Soares Furno Fontes<sup>1</sup>, Ronilda Lana Aguiar<sup>1</sup>, Anderson Mathias Holtz<sup>1</sup>.

<sup>1</sup>Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Distrito de Itapina Zona Rural, ES, Brasil. E-mail: [bayerbernabea@gmail.com](mailto:bayerbernabea@gmail.com).

### Resumo

*Tetranychus urticae*, conhecido como ácaro rajado, é uma espécie invasiva que causa danos econômicos, principalmente em mamoeiros, morangueiros e feijoeiros. A principal forma de controle são os químicos sintéticos, entretanto, tem-se buscado métodos alternativos. O uso de fungos entomopatogênicos como o *Beauveria bassiana* está em ascensão. Este fungo, encontrado no solo, água e vegetais, é eficaz como inseticida e acaricida. Perante o exposto, objetivou-se avaliar o efeito acaricida do extrato enzimático sobre adultos de *T. urticae*. O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia do IFES - Campus Itapina. Conídios de *B. bassiana* foram obtidos do produto comercial Beauveril® e cultivados em meio sólido para produzir o extrato enzimático. A pulverização da solução foi realizada utilizando aerógrafo e 1 mL de solução de cada formulado para cada repetição. Cada tratamento foi composto por 10 repetições, com 10 indivíduos de *T. urticae*. O teste de toxicidade demonstrou que, à medida que aumentou a concentração do extrato, aumentou a mortalidade de *T. urticae*.

**Palavras-chave:** *Tetranychus urticae*. Manejo alternativo. Fungo.

**Área do Conhecimento:** Agronomia.

### Introdução

O ácaro rajado *Tetranychus urticae* é uma importante praga para a agricultura em escala global, afetando mais de 1.100 espécies de plantas, incluindo espécies cultivadas e plantas hospedeiras (BAMEL; GULATI, 2018), (MIGEON; NOUGUIER; DORKELD, 2023) principalmente frutíferas, principalmente mamão (*Carica papaya* L.), morango e uva (OLIVEIRA *et al.*, 2016; MARTINS *et al.*, 2017; WYBOUW *et al.*, 2019; MICHEREFF FILHO *et al.*, 2020).

O ácaro rajado é um grande problema para a fruticultura capixaba, pois seu ataque reduz a capacidade fotossintética das plantas, causando necrose e perfuração das folhas, resultando na queda prematura das folhas, redução da produtividade e perda de qualidade dos frutos (CASTILHO *et al.*, 2022). A infestação atinge seu pico em períodos de baixa umidade e altas temperaturas. Em temperaturas reduzidas, as fêmeas entram em diapausa, abandonando a planta hospedeira e se protegendo em rachaduras, no solo ou em estruturas de estufas, retornando às atividades quando as temperaturas sobem novamente (CABI, 2021).

*Tetranychus urticae* possui uma ampla gama de produtos químicos e biológicos registrados para seu controle; no Brasil, há mais de 160 marcas registradas de agrodefensivos com variadas moléculas, organismos e mecanismos de ação (AGROLINK, 2023). No entanto, o uso indiscriminado de agrotóxicos e a rápida capacidade reprodutiva da espécie resultaram em populações resistentes a diferentes princípios ativos desde o século XX (BERNEDO, 2021).

Estudos mostram que *T. urticae* se adapta a várias espécies vegetais e que seu desenvolvimento e ciclo de vida podem variar conforme as condições climáticas (BENSOUSSAN *et al.*, 2018; MORAES; FLECHTMANN, 2008). Devido às suas capacidades adaptativas e de resistência, é necessário desenvolver tecnologias que manejem essa praga sem comprometer o equilíbrio ambiental.

*B. bassiana* é uma espécie formada por um complexo de isolados (cepas) que apresentam um grau considerável de diversidade genética, o que lhe permite explorar vários ambientes e atingir um número considerável de hospedeiros (GASMI *et al.*, 2021).

O emprego de fungos entomopatogênicos para controle de pragas agrícolas é uma das soluções mais interessantes, pois atendem aos quesitos eficácia e sustentabilidade, já existem produtos biológicos registrados a base de fungos, porém, a aplicação desse tipo de produto depende de fatores climáticos como condições climáticas favoráveis, já que se trata de um organismo vivo, além disso, possuem um espectro de ação retardado em comparação com os defensivos convencionais. Dentre eles os fungos entomopatogênicos são os mais utilizados atualmente, visto que infectam os artrópodes diretamente, por meio da penetração do exoesqueleto exercendo diferentes mecanismos de ação, tornando impossível o desenvolvimento de resistência pelo hospedeiro (OLIVEIRA *et al.*, 2019). *Beauveria bassiana* é uma espécie formada por um complexo de isolados (cepas) que apresentam um grau considerável de diversidade genética, o que lhe permite explorar vários ambientes e atingir um número considerável de hospedeiros (GASMI *et al.*, 2021).

Nesse contexto, o fungo *B. bassiana* é utilizado em grande escala para o controle de diversos insetos e ácaros pragas em variadas culturas agrícolas (AGROFIT, 2023).

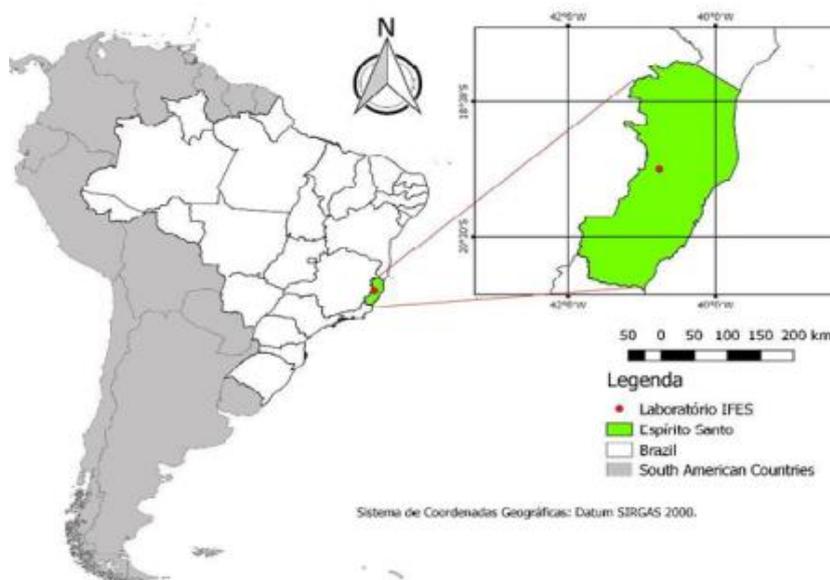
Visando o desenvolvimento de uma tecnologia inovadora que mantenha os benefícios da tecnologia comprovada do uso de fungos, o uso de enzimas sintetizadas por fungos entomopatogênicos é muito promissora, pois não depende de condições climáticas específicas e seu efeito tende a ser imediato sobre a praga.

Nesse contexto, estudos relacionados ao uso de enzimas produzidas por fungos para o combate a pragas podem trazer um grande avanço para o mercado agrícola, sendo uma oportunidade para a formulação de produtos inovadores e com baixo impacto ambiental.

## Metodologia

O experimento foi realizado nos Laboratórios de Entomologia e Acarologia Agrícola, Microbiologia e Química do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Itapina (Ifes - Campus Itapina) situado no município de Colatina – ES (Figura 1).

Figura 1 – Mapa de localização geográfica do Ifes Campus Itapina



Fonte: Marchiori, 2022.

## Criação e manutenção do ácaro rajado *Tetranychus urticae*

Inicialmente, os indivíduos foram obtidos da criação de *T. urticae* do Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola do Ifes Campus Itapina. Os ácaros são mantidos em plantas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) sob condições de cultivo protegido, tanto na estufa quanto em condições de laboratório, na B.O.D, em placas de Petri, em temperatura de  $25 \pm 1$  °C, umidade relativa  $45 \pm 10$  % e fotófase de 12 horas. Estas são preenchidas com folhas de feijão-de-porco sobre algodão umedecido com água destilada.

## Unidades experimentais e tratamentos

As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 x 1,2 cm), cada uma contendo algodão umedecido com água destilada, sobreposta com discos de folha de feijão-de-porco de aproximadamente 4 cm de diâmetro. Essas unidades foram delimitadas por algodão umedecido para manter a turgescência das folhas e evitar a fuga dos ácaros. Os tratamentos foram compostos por 07 repetições com 12 indivíduos fêmeas para cada repetição. As arenas foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., a uma temperatura de  $25 \pm 1$  °C, com umidade relativa de  $45 \pm 10$ % e uma fotófase de 12 horas.

## Obtenção de enzimas

A utilização da formulação comercial Boveril® (cepa ESALQ PL63) foi empregada para obter conídios de *B. bassiana*. Os conídios foram reconstituídos em água, empregando 1 grama da formulação comercial ( $1 \times 10^8$  conídios viáveis) para cada 10 mL de água destilada esterilizada. O procedimento foi executado dentro de uma cabine de segurança biológica, garantindo condições estéreis (Figura 6).

## Meio de cultivo

O fungo *Beauveria bassiana* PL63 foi cultivado por meio do processo de fermentação em estado sólido para gerar o extrato enzimático. A fermentação ocorreu em frascos Erlenmeyer de 250 mL, cada um contendo 10 gramas de farelo de trigo puro que foi umedecido com 6 mL de meio mínimo. Esse meio consistia nos seguintes componentes, medidos em gramas por litro: glicose (1,0), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (1,5), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (1,0), MgSO<sub>4</sub> (0,2), CaCl<sub>2</sub> (0,2), NaCl (0,2) e triptona (4,0). Para garantir a esterilidade, os frascos foram cobertos com algodão hidrofóbico e submetidos à autoclavagem a uma temperatura de 121° C por um período de 20 minutos. Cada frasco foi inoculado com 1,5 mL da suspensão de conídios *B. bassiana* PL63.

Para extração das enzimas secretadas, 50 mL de água destilada, numa proporção de 1:5, p/v foi introduzida nos Erlenmeyers com o meio fermentado. O líquido resultante, conhecido como sobrenadante, foi então segregado como extrato enzimático.

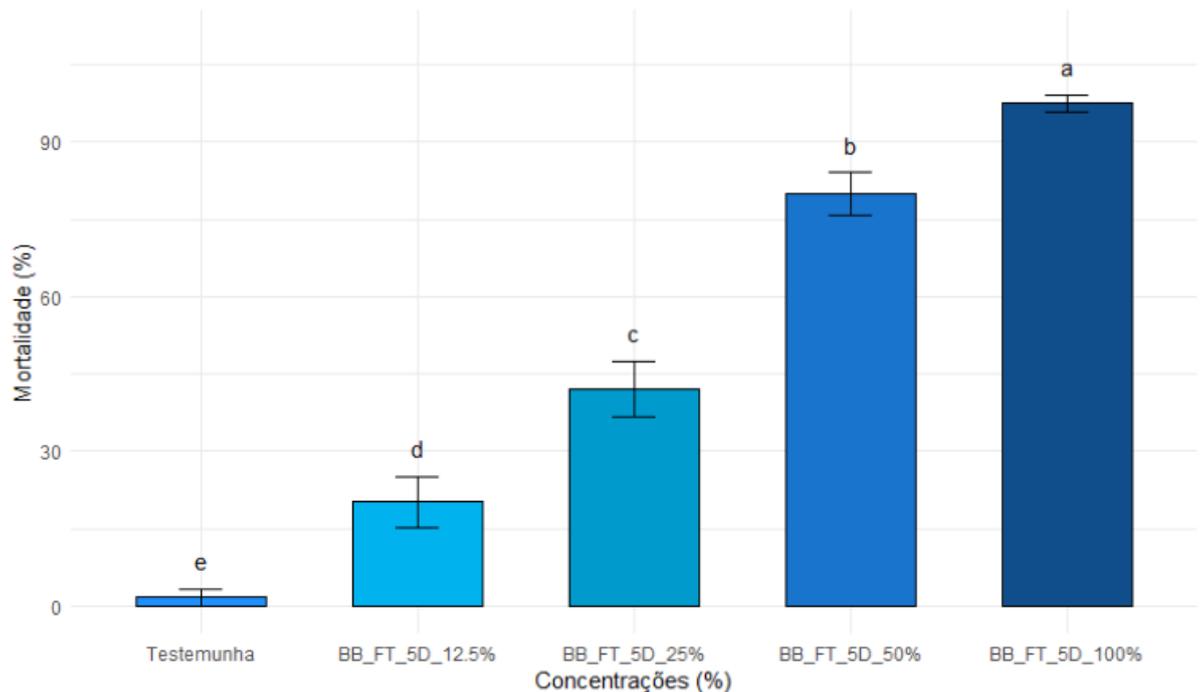
## Análise estatística

Foram utilizadas análise de variância e teste de Tukey ( $p < 0,05$ ) para a comparação das médias entre tratamentos. Os dados sobre a proteína total, atividade de lipase e protease foram utilizados em sua forma original. Para as análises, utilizou-se a linguagem de programação R e o software R Studio v 4.5.

## Resultados

A avaliação de toxicidade dos extratos enzimáticos mostrou que à medida que aumenta-se a concentração do extrato, aumenta a mortalidade de *T. urticae* (Figura 2).

Figura 2 - Gráfico da taxa de mortalidade de *T. urticae*



Fonte: próprio autor

## Discussão

Médias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste de Tukey a 5% de significância.

O tratamento com 100% do extrato enzimático de *B. bassiana* cultivada em farelo de trigo durante 5 dias, apresentou a maior média (97,4%) entre todos os grupos. Isso indica que esse tratamento foi o mais eficaz na morte dos ácaros alvo.

Os tratamentos com 50, 25 e 12,5% do extrato enzimático apresentaram mortalidade de 79,8, 41,9 e 20,1% respectivamente.

A mortalidade de *T. urticae*, observada após a exposição ao extrato enzimático pode ser explicada pela alta atividade enzimática descrita. As lipases são enzimas de crucial importância na etapa de degradação da cutícula de artrópodes, sendo necessárias também para o fator de virulência e patogenicidade do fungo (KEYHANI, 2018).

As proteases também são apontadas como as principais enzimas responsáveis pela degradação da camada cuticular que protege insetos e ácaros (DHAWAN; JOSHI, 2017; GEBREMARIAM; CHEKOL; ASSEFA, 2022), além da importância no fator de virulência e patogenicidade do fungo (Litwin; Nowak; Różalska, 2020). A alta atividade dessa enzima encontrada no extrato produzido pode ser apontada como uma das principais causadoras da mortalidade dos indivíduos de *T. urticae*, segundo LI *et al.* (2021) a formação da cutícula de *T. urticae* é composta por quitina, proteínas e lipídeos, os quais são degradados pelos metabólitos mencionados.

Entretanto, esses metabólitos possuem outras funções além da degradação cuticular de ácaros e insetos. WANG *et al.* (2021) descrevem que as toxinas produzidas pelo fungo *B. bassiana* causam vários sintomas no hospedeiro, como, desidratação grave, comportamento anômalo, descoordenação, convulsões, alimentação insuficiente e distúrbios no metabolismo, que em algumas vezes podem causar a morte do hospedeiro.

## Conclusão

Extrato enzimático de *Beauveria bassiana* cultivada em farelo de trigo durante 5 dias tem efeito tem efeito acaricida em adultos de *T. urticae*.

## Referências

AGROFIT. **Agrofit**. Disponível em:

[https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit\\_cons/principal\\_agrofit\\_cons](https://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons)>. Acesso em: 9 jul. 2023.

AGROLINK. **Ácaro rajado (*Tetranychus urticae*)**. Disponível em:

<[https://www.agrolink.com.br/problemas/acaro-rajado\\_126.html](https://www.agrolink.com.br/problemas/acaro-rajado_126.html)>. Acesso em: 9 jul. 2023.

BAMEL, K.; GULATI, R. Biology, population built up and damage potential of Red spider mite, *Tetranychus urticae* Koch (Acari: Tetranychidae) on marigold: A review. **Journal of Entomology and Zoology Studies**, v. 9, n. 1, p. 547–552, 1 jan. 2018.

Bensoussan, N. *et al.* The digestive system of the two-spotted spider mite, *Tetranychus urticae* koch, in the context of the mite-plant interaction. **Frontiers in Plant Science**, v. 9, p. 1206, 11 set. 2018.

Cabi. ***Tetranychus urticae* (two-spotted spider mite)**. Disponível em:

<<https://www.cabi.org/isc/datasheet/53366#REF-DDB-199669>>. Acesso em: 10 jul. 2022.

DHAWAN, M.; JOSHI, N. Enzymatic comparison and mortality of *Beauveria bassiana* against cabbage caterpillar *Pieris brassicae* LINN. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 48, n. 3, p. 522–529, jul. 2017.

DE CAMPOS CASTILHO, RAPHAEL *et al.* ÁCAROS DO MAMOEIRO: MANEJO E CONTROLE. **Papaya Brasil**, p. 114, 2022.

GASMI, L. *et al.* Gene diversity explains variation in biological features of insect killing fungus, *Beauveria bassiana*. **Scientific Reports 2021 11:1**, v. 11, n. 1, p. 1–12, 8 jan. 2021.

GEBREMARIAM, A.; CHEKOL, Y.; ASSEFA, F. Extracellular enzyme activity of entomopathogenic fungi, *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* and their pathogenicity potential as a bio-control agent against whitefly pests, *Bemisia tabaci* and *Trialeurodes vaporariorum* (Hemiptera: Aleyrodidae). **BMC Research Notes**, v. 15, n. 1, p. 117, 26 dez. 2022.

KEYHANI, NEMAT O. Biologia lipídica no estresse fúngico e virulência: fungos entomopatogênicos. **Biologia fúngica**, v. 122, n. 6, p. 420-429, 2018.

LI, G. *et al.* Transcriptome Analysis of Hormone-and Cuticle-Related Genes in the Development Process of Deutonymph in *Tetranychus urticae*. **Insects**, v. 12, n. 8, p. 736, 17 ago. 2021.

LITWIN, A.; NOWAK, M.; RÓŻALSKA, S. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 19, n. 1, p. 23–42, 10 mar. 2020.

MARCHIORI, J. J. P., HOLTZ A. M., PIFFER A. B. M., AGUIAR R. L., BOTTI J. M. C., FRANZIN M. L., OLIVEIRA V.S., FONTES P. S. F., MAGNANI, B.O., GOMES M.P.. Extrato aquoso de pimenta malagueta no manejo da cochonilha rosa do hibisco (Hemiptera: Pseudococcidae). **J Entomol Zool Stud** 2023;11(3):14-18. DOI: 10.22271/j.ento.2023.v11.i3a.9193

MARTINS, M. J. *et al.* Pragas do mamoeiro. **INFORME AGROPECUÁRIO - INCAPER**, Belo Horizonte v. 37, n. 293, p. 30-42, 2016. Disponível em:

<<http://biblioteca.incaper.es.gov.br/digital/handle/item/2698>>.

MICHEREFF FILHO, M. *et al.* Guia para identificação de pragas do morangueiro. **Embrapa Hortaliças-Documentos (INFOTECA-E)**, v. 178, p. 10-14, 2020. Disponível em: <<http://www.infoteca.cnptia.embrapa.br/infoteca/handle/doc/1124694>>.

MIGEON, A.; NOUGUIER, E.; DORKELD, F. **Spider Mites Web species**. Disponível em: <<https://www1.montpellier.inrae.fr/CBGP/spmweb/species.php?id=872#hosts>>. Acesso em: 13 nov. 2023.

MORAES, G. J. DE; FLECHTMANN, C. H. W. MANUAL DE ACAROLOGIA - ACAROLOGIA BÁSICA E ÁCAROS DE PLANTAS CULTIVADAS NO BRASIL. **Holos**, p. 308–109, 2008.

OLIVEIRA, JE DE M. *et al.* Manejo da resistência do ácaro-rajado (*Tetranychus urticae* Koch) em videira no Submédio do Vale do São Francisco. **Comunicado Técnico 47 (online) - Embrapa Semiárido**, v. 169, 2016. Disponível em: <<https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/156313/1/COT169.pdf>>

WYBOUW, N. *et al.* Long-term population studies uncover the genome structure and genetic basis of xenobiotic and host plant adaptation in the herbivore *Tetranychus urticae*. **Genetics**, v. 211, n. 4, p. 1409-1427, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1534/genetics.118.301803>.

WANG, H. *et al.* The Toxins of *Beauveria bassiana* and the Strategies to Improve Their Virulence to Insects. **Frontiers in Microbiology**, v. 12, 26 ago. 2021.

### Agradecimentos

A 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) pelo apoio e concessão de bolsas de pesquisa.