

POTENCIAL ACARICIDA DE EXTRATOS ENZIMÁTICOS NO CONTROLE DO ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS

Ana Clara Bayer Bernabé, Thiago Nieiro Cuzzuol, Bruno Silva Bruni, Kristiélén Jeniffer Abreu Mageste, Thiago Rodrigues Dutra, Ronilda Lana Aguiar, Anderson Mathias Holtz.

¹Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Distrito de Itapina Zona Rural, ES, Brasil. E-mail: bayerbernabea@gmail.com.

Resumo

Raoiella indica Hirst, 1924 (Prostigmata: Tenuipalpidae), conhecido como ácaro vermelho das palmeiras, é uma espécie invasiva que causa danos econômicos, principalmente em coqueiros e bananeiras. A principal forma de controle são os químicos sintéticos, entretanto, tem-se buscado métodos alternativos, uso de fungos entomopatogênicos como o *Metarhizium anisopliae* 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 *R. indica*. O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia do IFES - Campus Itapina. Conídios de *M. anisopliae* foram obtidos do produto comercial Metarril® 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 *R. indica*. O teste de toxicidade demonstrou que, à medida que aumentou a concentração do extrato, aumentou a mortalidade de *R. indica*.

Palavras-chave: *Raoiella indica*. *Metarhizium anisopliae*. Manejo alternativo.

Área do Conhecimento: Agronomia.

Introdução

O ácaro-vermelho, conhecido cientificamente como *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae), foi introduzido nas Américas há 15 anos. Desde então, disseminou-se de maneira veloz por todo o continente, alcançando diversas ilhas do Caribe, o sul da Flórida, o México, a Venezuela, a Colômbia e o norte do Brasil (Amaro, 2021).

Esta variedade de ácaro tem o potencial de causar danos substanciais em populações numerosas, especialmente devido à sua natureza polífaga, geralmente alimentando-se na parte inferior da folha por meio dos estômatos do hospedeiro. Esses ataques severos podem resultar em prejuízos significativos (OCHOA *et al.*, 2011). A presença de *R. indica* resulta no amarelamento e ressecamento completo das folhas de seus hospedeiros (Mendonça *et al.*, 2005; Carrillo *et al.*, 2012; Gondim Jr *et al.*, 2012; Teodoro *et al.*, 2016; Gomes, 2023). Além disso, essa infestação pode acarretar sérios prejuízos na produção, com uma redução de mais de 70% no rendimento, como observado na produção de coco no Caribe e no México, e na produção de coco e banana no Brasil (Gomes, 2023).

O combate ao ácaro vermelho das palmeiras em diversos países é predominantemente realizado por meio do controle químico sintético. No entanto, no Brasil, há poucos métodos registrados para lidar com essa praga (Agrofit, 2024). Diante desse cenário, surgem alternativas viáveis para controlar *R. indica*, métodos que não causem danos ao meio ambiente. Essas alternativas visam evitar os impactos associados ao uso indiscriminado de agrotóxicos, tais como a evolução da resistência da espécie devido à pressão constante, preocupações com a saúde dos agricultores e consumidores, e riscos de contaminação de lençóis freáticos e solo, entre outros fatores.

O controle biológico aplicado abrange o uso de parasitóides, insetos/ácaros predadores e microrganismos entomopatogênicos, como fungos, vírus e bactérias. Entre eles, os fungos entomopatogênicos são os mais empregados na atualidade. Esses fungos infectam diretamente os artrópodes ao penetrar no exoesqueleto, executando diversos mecanismos de ação. Essa abordagem torna inviável o desenvolvimento de resistência por parte do hospedeiro (Oliveira *et al.*, 2019).

O agente de biocontrole *Metarhizium anisopliae* (Ascomycota: Hypocreales: Clavicipitaceae) é um dos fungos patogênicos de artrópodes mais bem estudados e é utilizado em programas de controle biológico contra diversas pragas em todo o mundo. *M. anisopliae* está amplamente distribuído na natureza, sendo encontrado no solo, na rizosfera, nas raízes das plantas, em carcaças de artrópodes e, ao infectar esses organismos, pode assumir condições saprofíticas, endofíticas ou infecciosas (Beys-Da-Silva, 2020).

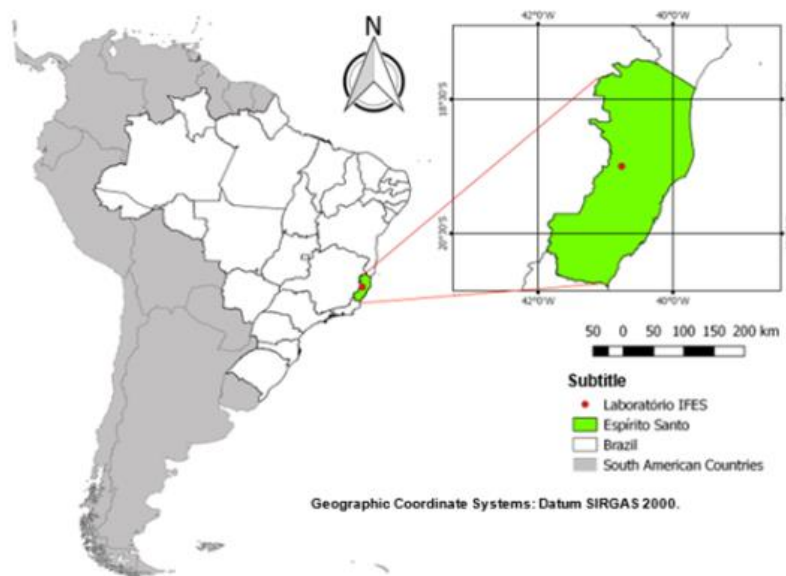
Os fungos entomopatogênicos são organismos biológicos que não causam impactos prejudiciais ao meio ambiente, sendo, por isso, referidos como "pesticidas verdes" (Sandhu et al., 2017; Lovett et al., 2019a; Peng, 2022). Sua eficácia notável na eliminação de hospedeiros e a diversidade biológica significativa oferecem diversas oportunidades para o controle biológico. Essa abordagem pode contribuir para a redução do uso de produtos químicos sintéticos e promover o desenvolvimento sustentável (Damalas e Koutroubas, 2018; Peng, 2022).

Assim, objetiva-se avaliar a ação bioacaricida do extrato enzimático derivado de *M. anisopliae* sobre *R. indica*, em ambiente controlado de laboratório.

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 (Figura 1).

Figura 1- Mapa geográfico da posição do Instituto Federal do Espírito Santo - Campus Itapina (IFES Campus Itapina).



Fonte: Adaptado de Marchiori et al., 2023.

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

Para infestação inicial, folíolos infestados com *R. indica* foram colocados em contato com as mudas de coco anão (*Cocos nucifera* L. Var. Nana) mantidas em casa de vegetação, no setor de Horticultura do IFES – Campus Itapina, para que os indivíduos desta praga migrassem para as mudas. A manutenção da criação consistiu no cuidado com as mudas de coco atentando-se para a irrigação e exposição ao sol regularmente. Quando as mudas atingiram um grau elevado de infestação ou quando estas não apresentaram boas condições (maior parte da área vegetal necrosada), os indivíduos foram redistribuídos para novas mudas, conforme descrição no início deste tópico. As mudas foram irrigadas com auxílio de um sistema de gotejamento automatizado e os tratos culturais

foram realizados conforme a necessidade. Não foram utilizados produtos químicos para controle de pragas e doenças.

Montagem das unidades experimentais

Nos bioensaios, para a obtenção dos ácaros na fase adulta, foram transferidos 40 fêmeas adultas e 2 machos de *R. indica* 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. 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 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 por aproximadamente 20 – 25 dias, tempo necessário para conclusão da fase imatura da espécie (ovo – adulto), sendo dessa forma obtido indivíduos com idade e fase de desenvolvimento padronizada para a pesquisa. Após esse período, 10 fêmeas adultas de *R. indica* foram transferidas para cada arena. Estas arenas foram compostas por placas de Petri (10,0 x 1,2 cm), contendo algodão umedecido com água destilada sobreposta com folíolos de palmeiras com 6 cm de comprimento e 1 cm de largura, delimitadas por algodão umedecido para manter a turgescência da folha e evitar a fuga dos ácaros. Os folíolos de palmeiras, para montagem das arenas, foram obtidos de plantas em estufa do próprio campus. Estes folíolos foram sanitizados com solução sanitizante Startclor® 0,5% por 10 minutos. 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 do bioacaricida a base de *M. anisopliae*. As arenas foram 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.

Crescimento dos fungos e produção enzimática

Obtenção de enzimas

Conídios de *M. anisopliae* foram obtidos do produto comercial Metarril®. Os conídios foram ressuspensos em água destilada estéril para preparação da suspensão de esporos. As suspensões de esporos de *M. anisopliae* foram adicionadas em frascos contendo 50 mL de meio líquido 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, caseína (proteases), quitina coloidal (quitinases), óleo de oliva (lipases), K_2HPO_4 , MgSO_4 , ZnSO_4 , FeSO_4 e CuSO_4 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 .

Bioensaios

Ação enzimática sobre *R. indica*

Inicialmente foi aplicada uma solução de extrato enzimático a base de *M. anisopliae* para observância de 95% da mortalidade dos indivíduos adultos de *R. indica* por um período de 24 horas. Havendo essa observância, a concentração que promove pelo menos 95% de mortalidade foi denominada de concentração "Mãe", ou seja, concentração a 100%. A partir dessa concentração estabelecida foram realizadas diluições para obtenção das diferentes concentrações de extratos enzimáticos de *M. anisopliae* e testadas sobre adultos de *R. indica*, testando-se as concentrações de 0 (controle - água), 25, 50, 75 e 100%. Cada tratamento foi composto por 10 repetições, com 10 indivíduos de *R. indica* por repetição. As unidades experimentais foram compostas por uma placa de Petri (10,0 x 1,2 cm), conforme descrição anterior. 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. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas à temperatura de $25 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa $70\% \pm 10$ e fotofase de 12 h. O efeito bioacaricida do extrato foi avaliado 24, 48 e 72 horas após as pulverizações.

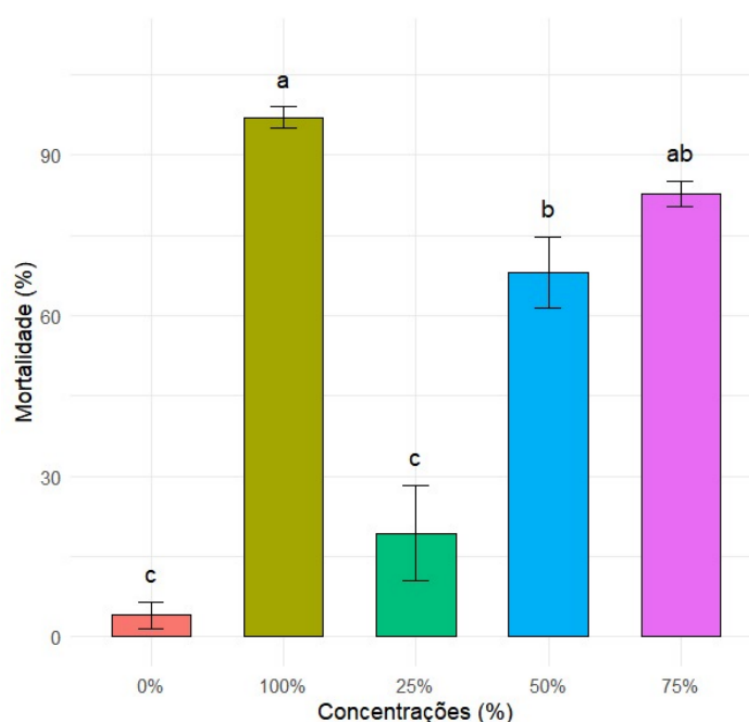
Análise estatística

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

Resultados

O teste de toxicidade dos extratos enzimáticos mostrou que à medida que aumenta-se a concentração do extrato, aumenta a mortalidade de *R. indica* (Figura 2).

Figura 2 – Mortalidade cumulativa da população total de *Raoiella indica* pela aplicação do extrato enzimático de *Metarhizium anisopliae*.



Fonte: próprio autor

Discussão

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

O extrato enzimático de *M. anisopliae* cultivado por 7 dias em farelo de trigo, mostrou efeito tóxico em fêmeas adultas de *R. indica*. Baseado na análise estatística, nota-se que o aumento da concentração do extrato proporcionou o aumento da mortalidade, de modo que as médias de mortalidade obtidas foram superiores àquelas do tratamento controle. A concentração de 25% apresentou 19,37% de mortalidade, diferenciando estatisticamente das concentrações de 50%, 75% e 100% (Figura 5). Além disso, a concentração de 100% foi estatisticamente diferente da concentração de 50%, apresentando mortalidades de 97,03% e 68,07%, respectivamente (Figura 5).

Os fungos entomopatogênicos são importantes inimigos naturais de artrópodes que podem agir sobre distintos estágios evolutivos do hospedeiro, bem como por terem uma virulência praticamente específica (Samish, Ginsberg e Glazer, 2004; Lopes, 2021). Li et al. (2021) realizaram trabalhos que indicaram mutações em cepas de *M. anisopliae* e causaram aumento da virulência do patógeno reduzindo em 50% o tempo de sobrevivência de insetos tratados com a cepa mutante. Ademais, os

fungos entomopatogênicos possuem uma característica importante que é a de penetrar ativamente pela cutícula do artrópode (Madelin; Robinson; Williams, 1967; Lopes, 2021).

A alta mortalidade de *R. indica* observada após a exposição ao extrato enzimático pode ser atribuída à elevada atividade enzimática relatada. As proteases são descritas como um dos principais fatores de patogenicidade e virulência dos fungos entomopatogênicos (Litwin *et al.*, 2020) são apontadas também como as principais enzimas responsáveis pela degradação da camada cuticular que protege insetos e ácaros (Dhawan; Joshi, 2017; Gebremariam; Chekol; Assefa, 2022). As lipases também são responsáveis pela degradação da cutícula dos artrópodes e são essenciais para a virulência e patogenicidade do fungo (Keyhani, 2018).

Resultados obtidos no presente estudo corroboram com Alves (2023) que encontrou resultados semelhantes ao utilizado extrato enzimático a partir do substrato fermentado por *M. anisopliae* inoculados em farelo de trigo, apresentando mortalidade de 89,29% sobre o ácaro rajado (*Tetranychus urticae*).

Conclusão

Extrato enzimático de *M. anisopliae* mostrou potencial bioacaricida sobre fêmeas adultas de *R. indica*, em condições controladas de laboratório.

Referências

Agrofit - Sistema de Agrotóxicos Fitossanitários. Disponível em: <http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons>. Acesso em: 20 de jan. 2024.

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

Amaro, George et al. Distribuição geográfica atual e potencial do ácaro-vermelho (*Raoiella indica* Hirst) no Brasil. **Informática Ecológica**, v. 65, p. 101396, 2021.

Beys-Da-Silva, Walter O. et al. Atualização da aplicação de *Metarhizium anisopliae* no controle do carrapato *Rhipicephalus microplus* (Acari: Ixodidae). **Parasitologia Experimental**, v. 208, p. 107812, 2020.

Carrillo, D. et al. Host plant range of *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) in areas of invasion of the New World. **Experimental and Applied Acarology**, Amsterdam, NE, v. 57, p. 271-289, 2012.

Damalas CA, Koutroubas SD. 2018. Situação atual e evolução recente do uso de biopesticidas. **Agricultura**. 8(1):1. DOI:10.3390/agriculture8010013.

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.

Empresa Brasileira De Pesquisa Agropecuária (Embrapa). Visão 2030: o futuro da agricultura brasileira. Brasília, DF, 2018. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/documents/10180/9543845/Vis>>. Acesso em: 18 jan. 2024.

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.

Gomes, Maria Isabel de Oliveira Lopes. **Taxa instantânea de crescimento de *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) em diferentes hospedeiros**. 2023. Trabalho de Conclusão de Curso.

Gondim Jr, M. G. C. et al. Can the red palm mite threaten the Amazon vegetation? Systematic and Biodiversity, Cambridge, v. 10, p. 527-535, 2012.

Lopes, Adriani Da Silva Carneiro et al. Avaliação da associação de diferentes propágulos de *Metarhizium spp.* a acaricidas comerciais para o controle de *Rhipicephalus microplus*. 2021.

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.; Rózsalska, S. Entomopathogenic fungi: unconventional applications. **Reviews in Environmental Science and Bio/Technology**, v. 19, n. 1, p. 23–42, 10 mar. 2020. Lovett B, Bilgo E, Diabate A, St Leger R. 2019a. Uma revisão do progresso na aplicação em campo de fungos entomopatogênicos mosquitocidas transgênicos. **Pest Manag Sci.** **75(9)**:2316–2324. DOI:10.1002/ps.5385.

Johnatan Jair de Paula Marchiori, Anderson Mathias Holtz, Ana Beatriz Mamedes Piffer, Ronilda Lana Aguiar, Jéssica Mayara Coffler Botti, Mayara Loss Franzin, Vinicius de Souza Oliveira, Patrícia Soares Furno Fontes, Bruna de Oliveira Magnani, Matheus de Paula Gomes. 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

Madelin, M.F.; Robinson, R.K.; Williams, R.J. Apressoriumlike structures in insects parasiting deuteromycetes, **Journal of Invertebrate Pathology**, v. 9, p. 404– 412, 1967.

Mendonça, R. S.; Navia, D.; Flechtmann, Carlos Holger Wenzel. *Raoiella indica* Hirst (prostigmata: tenuipalpidae), o ácaro vermelho das palmeiras-uma ameaça para as Américas. 2005. Ochoa, R. et al. **Herbivore exploits chink in armor of Host. American Entomologist**, v. 57, n. 1, p. 26–29, 2011.

Oliveira, R. P. et al. Compatibilidade de inseticidas utilizados no controle da mosca branca em soja com *Beauveria bassiana*. **Revista de Agricultura Neotropical**, v. 5, n. 4, p. 88-93, 2018. Peng, Zhe-Yu et al. Atualização de um pesticida verde: *Metarhizium anisopliae*. **Toda a Vida**, v. 15, n. 1, p. 1141-1159, 2022.

Pinheiro, Esmael Cunha; De Vasconcelos, Geraldo José Nascimento. 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.

Samish, M.; Ginsberg, H.; Glazer, I. Biological control of ticks. **Parasitology**. v. 129, p. 389-413, 2004 Sandhu SS, Shukla H, Aharwal RP, Kumar S, Shukla S. 2017. Eficácia de fungos entomopatogênicos como pesticidas verdes: perspectivas atuais e futuras. In: D.G. Panpatte, Y.K. Jhala, R.V. Vyas, H.N. Shelat, editor. **Microrganismos para a revolução verde: volume 1: micróbios para a produção agrícola sustentável**. Cingapura: Springer Cingapura; p. 327-349.

Teodoro, A. V. et al. Bioecologia e manejo dos principais ácaros-praga do coqueiro no Brasil. 2015.

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.