

EXTRATO ENZIMÁTICO À BASE DE *Beauveria bassiana* EM DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO SOBRE *Oligonychus ilicis*

Selena Nascimento de Andrade, Thiago Nieiro Cuzzuol, Kristiélén Jeniffer Abreu Mageste, Carolina Guedes Luppi, Gustavo Pazolini Stein, Valeria Polese, Anderson Mathias Holtz.

Instituto 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, selena.nandrade@gmail.com, thiagonieiroc12@gmail.com, krisjeniffermageste@outlook.com, carolinaglestudo@gmail.com, gustavo.stein@estudante.ifes.edu.br, valeria.polese@ifes.edu.br, anderson.holtz@ifes.edu.br.

Resumo

Oligonychus ilicis, também conhecido como ácaro vermelho do café, é uma praga de grande importância para a cultura cafeeira devido ao seu hábito alimentar fitófago, causando danos significativos às folhas das plantas. Visto isso, objetiva-se neste projeto avaliar o efeito acaricida do extrato enzimático de *Beauveria bassiana* em diferentes tempos de armazenamento para manejo de *O. ilicis* em condições de laboratório. Para isso, a *B. bassiana* foi cultivada a partir da formulação comercial Boveril®. Posteriormente, realizou-se a inoculação em tubos de ensaio inclinados contendo meio BDA. Após o período de incubação o conteúdo foi homogeneizado e centrifugado, sendo este considerado o extrato enzimático (solução-mãe). Os tratamentos foram realizados por diferentes períodos, seguindo a ordem cronológica de 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 dias após o preparo da solução. 1 ml da solução-mãe foi aplicado em 10 repetições que continham 10 fêmeas adultas por placa. A avaliação do efeito acaricida foi realizada durante 24, 48 e 72 horas após a pulverização. Observou-se que à medida que se aumentava a concentração, aumentava a mortalidade de *O. ilicis*.

Palavras-chave: Bio acaricida enzimático. Ácaro vermelho do café. Controle biológico.

Área do Conhecimento: Engenharia Agrônômica – Agronomia.

Introdução

O Brasil possui liderança consolidada como maior produtor mundial de café, contribuindo diretamente para o crescimento socioeconômico nacional (Carvalho; Pavan & Hasegawa, 2020). Nesse contexto, o Espírito Santo se destaca como maior produtor nacional de café conilon e segundo maior produtor de café total do País (Pinto 2019; Incaper, 2023; Conab 2023). Dessa forma, a cafeicultura possui grande representatividade no agronegócio capixaba, movimentando a economia do estado, gerando emprego e renda para os trabalhadores rurais (Krohling *et al.*, 2018).

Dentre as pragas que atacam o cafeeiro, destaca-se o ácaro vermelho do café, *Oligonychus ilicis* (McGregor, 1917) (Acari: Tetranychidae). Esta praga possui hábito alimentar fitófago e vive na superfície adaxial das folhas, onde perfura células da epiderme e do mesófilo e absorve o conteúdo celular extravasado, levando à redução do potencial fotossintético da planta, podendo retardar o desenvolvimento do cafezal. O ataque inicia-se em reboleiras no cafezal, porém quando não há monitoramento, nem manejo adequado da praga, ela rapidamente se estabelece por toda lavoura (Franco *et al.*, 2021).

Atualmente o método de controle usual prevalece sendo o químico, com acaricidas sintéticos à base de avermectinas, dos piretróides e dos organofosforados (Agrofit, 2025). Entretanto, o uso em excesso de agrotóxicos nos monocultivos provocam desequilíbrio ecológico, contaminação dos cursos hídricos e malefícios à saúde dos seres humanos e animais, realidade retratada no Espírito Santo (D'Ávila, 2015; Mello *et al.*, 2019).

Os fungos entomopatogênicos são microrganismos utilizados no manejo de pragas, possuindo eficiência comprovada sobre diferentes organismos de interesse agrícola, como broca do café, cochonilhas e ácaros fitófagos (Souza, 2019; Moro *et al.*, 2020; Lima, 2021). A virulência dos fungos entomopatogênicos se dá pela produção de compostos que atuam sobre os insetos e ou ácaros de

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

forma variada, podendo inibir alguns processos metabólicos e fisiológicos levando a morte dos indivíduos (Junior & Guarus, 2011). Esses compostos, em sua maioria enzimas, são as principais estratégias de ação dos fungos contra seus hospedeiros (Mora, Castilho & Fraga, 2016).

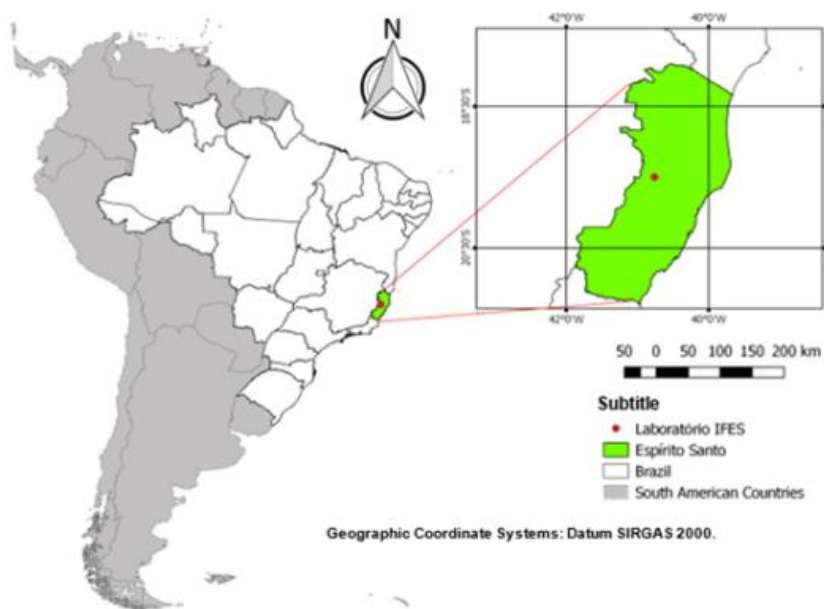
Embora haja relatos da importância das enzimas no processo de infecção de insetos por fungos entomopatogênicos poucos estudos foram realizados avaliando o potencial dessas enzimas como inseticida e acaricida (Dutta *et al.*, 2015; Soares *et al.*, 2015; Aguiar, 2020). Todavia, a aplicação de tecnologias enzimáticas para o controle de insetos e ácaros-praga ainda é incipiente. Nesse contexto, adoção de tecnologias mais sustentáveis no manejo de pragas devem ser implementadas, visando o bem-estar da população e a segurança ambiental.

Além disso, impulsiona a indústria brasileira na formulação de insumos agrícolas mais sustentáveis (Michereff Filho *et al.*, 2021). Visto isso, objetiva-se neste projeto avaliar o efeito acaricida do extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos de armazenamento, como alternativa de manejo do ácaro vermelho do café.

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 do café (*O. ilicis*)

Fêmeas adultas de *O. ilicis* foram coletadas na lavoura de café conilon livre de agrotóxicos do Ifes–Campus Itapina e transferidas para as arenas que consistiram em placas de Petri (14,0 x 1,5 cm) contendo um disco de folha de café conforme metodologia de Reis *et al.* (1997), modificada pelo Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola do Ifes-Campus Itapina.

Para a preparação das arenas folhas de *C. canephora* foram coletadas na mesma lavoura, higienizadas e colocadas em placas de Petri (14,0 x 1,5 cm). Algodão umedecido foi adicionado no fundo e ao redor da folha de café para manter a sua turgidez e evitar a fuga dos ácaros. As placas de

petri foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., a $25 \pm 1^\circ\text{C}$, UR de $70 \pm 10\%$ e fotofase de 12h. A manutenção da criação foi realizada semanalmente, sendo os adultos de *O. ilicis* transferidos para novas placas de petri a cada manutenção.

Obtenção das enzimas

As culturas de *Beauveria bassiana* foram obtidas a partir do isolamento e repicagem de conídios presentes na formulação comercial Boveril®. Os conídios foram ressuspensos em água destilada estéril, sendo todas as etapas conduzidas em condições assépticas, em cabine de segurança biológica.

Para a produção do extrato enzimático, utilizou-se fermentação em estado sólido (FES). Como substrato sólido, empregou-se farelo de trigo (sem preferência por marca), ao qual foram adicionadas uma solução de meio mínimo e a suspensão de conídios de *B. bassiana*. A mistura foi homogeneizada e acondicionada em frascos Erlenmeyer (125 mL), que foram incubados em câmara tipo BOD, a $28 \pm 1^\circ\text{C}$, umidade relativa de $70\% \pm 10\%$, sob fotoperíodo de 24 horas de escuro, durante sete dias. Após o período de fermentação, o conteúdo foi homogeneizado, centrifugado, e o sobrenadante coletado, sendo este considerado o extrato enzimático (solução-mãe).

Ação enzimática sobre *O. ilicis* e montagem das unidades experimentais

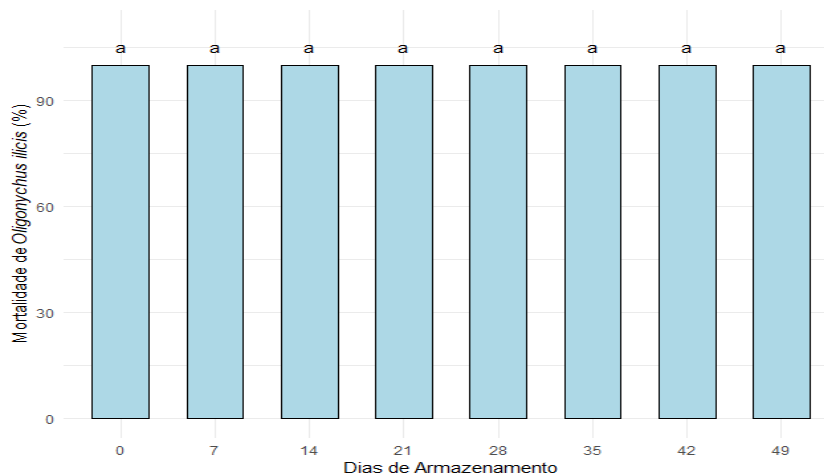
Foram testadas as concentrações de 0 (água destilada) e 100%, sendo 10 repetições por tratamento e 10 ácaros adultos por repetição. As unidades experimentais foram compostas por placa de Petri (10 x 1,2 cm), forrada ao fundo com algodão umedecido, com um disco de folha de Café Conilon de 4cm de diâmetro sobre o algodão, sendo estas placas recobertas com filme plástico do tipo PVC. A pulverização foi realizada utilizando aerógrafo, modelo Alfa 2, conectado a um compressor calibrado com pressão constante de 1.3 bar. Em cada unidade experimental aplicou-se 1mL da concentração correspondente preparada. A avaliação foi realizada em 24, 48, e 72 horas após as pulverizações.

Foi calculado a mortalidade corrigida em relação à testemunha pela fórmula de Abbott (1925), e os dados foram submetidos ao teste de Tukey a 5% de significância.

Resultados

No teste realizado, os resultados apontam que a eficácia das enzimas provenientes do processo de fermentação se manteve durante o período de avaliação de 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42, e 49 dias respectivamente. Resultando na mortalidade de 99% da população de *O. ilicis* em todas as semanas testadas. A análise de variância seguida do teste de Tukey indicou que não houve diferença estatística significativa entre os tratamentos, evidenciado pelas letras iguais atribuídas às médias. (Figura 2).

Figura 2. Mortalidade de adultos de *Oligonychus ilicis* sob ação do extrato à base de *Beauveria bassiana* em diferentes tempos de armazenamento.



A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

Fonte: Próprio autor.

Discussão

Esse resultado demonstra a estabilidade do extrato enzimático durante o período de armazenamento, garantindo ação da atividade acaricida mesmo após 49 dias. Estudos prévios apontam que as enzimas proteolíticas ou proteases, além de estarem envolvidas nos processos de formação e germinação dos conídios, têm funções nutricionais importantes, sendo capazes de hidrolisar as cadeias polipeptídicas em cadeias menores, que são absorvidas pelas células (TIAGO; SILVA, 2007).

Em um trabalho realizado por GEBREMARIAM *et al.* (2022), assim como o *Metarhizium anisopliae*, a *B. bassiana* apresentou um alto nível de atividades de quitinase, lipase e protease, indicando assim a capacidade da quebra de proteínas, quitina e lipídios, influenciando na penetração das cutículas, aumento a virulência contra os organismos alvo.

A manutenção da eficiência do extrato por longos períodos de armazenamento é uma vantagem frente ao uso de conídios viáveis, que podem perder viabilidade ao longo do tempo devido a fatores ambientais, como temperatura e radiação (Oliveira *et al.*, 2016). Portanto, o uso de extratos enzimáticos representa uma alternativa promissora, pois dispensa as condições específicas necessárias para a germinação e infecção dos fungos no campo, podendo ser integrado em programas de manejo alternativo do ácaro vermelho do café.

Conclusão

O extrato enzimático a base de *Beauveria bassiana* manteve sua atividade acaricida ao longo de todo o período de avaliação, indicando que o tempo de armazenamento não comprometeu a integridade do extrato, o que é evidenciado pelos valores estatisticamente iguais em todas as semanas avaliadas.

Referências

HOLTZ, A. M. et al. Alternative management of *Tetranychus urticae* with extract of the jatropha pie. Journal Of Entomology And Zoology Studies, v. 11, n. 2, 2023. Disponível em: <https://www.entomoljournal.com/archives/2023/vol11issue2/PartA/11-2-20-834.pdf>. Acesso em: 27 Jun. 2025.

LI, C. et al. Mutation of a prenyltransferase results in accumulation of subglutinols and destruxins and enhanced virulence in the insect pathogen, *Metarhizium anisopliae*. Environmental Microbiology, v. 24, n. 3, 2022. Disponível em: <https://enviromicro-journals.onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/1462-2920.15859>. Acesso em: 27 Jun. 2025.

MACKE, E. et al. Sex allocation in haplodiploids is mediated by egg size evidence in the spider mite *Tetranychus urticae* Koch. Proceedings Of The Royal Society B: v. 278, n. 1708, 2010. Disponível em: <https://royalsocietypublishing.org/doi/10.1098/rspb.2010.1706>. Acesso em: 17 set. 2025.

MALDONADO-MICHEL, M. A. et al. Acaricidal, ovicidal and fagoinhibition activities of seed extracts from *Swietenia humilis* against *Tetranychus urticae* under laboratory conditions. Industrial Crops And Products. v. 177, 2022. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0926669021012590>. Acesso em: 27 Jun. 2025.

MARCHIORI, J. J. P. et al. Could Aqueous Extract from Castor Plants be the Solution to Effectively Control the Pink Mealybug Nymphs? Revista de Gestão Social e Ambiental. v. 18, n. 2, 2024. Disponível em: <https://rgsa.openaccesspublications.org/rgsa/article/view/4924>. Acesso em: 03 ago. 2025.

NAUEN, R. et al. Acaricide toxicity and resistance in larvae of different strains of *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi* (Acari: Tetranychidae). Pest Manage. 2001. Acesso em: 17 Jun. 2025.

RIZZO, R. et al. Lethal and sublethal effects of carlina oxide on *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) and *Neoseiulus californicus* (Acari: Phytoseiidae). Pest Management Science. v. 80, n.

A Ciência do **NANO** e seu impacto transformador no **MACRO**

3, 2023. Disponível em: <https://scijournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/ps.7827>. Acesso em: 27 jun. 2025.

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: <file:///home/guest/Downloads/7104-Texto%20do%20Artigo-33232-1-10-20231017.pdf>. Acesso em: 27 jun. 2025.

SCHRANK, A. ; VAINSTEIN, M. H.. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*. v. 56, n. 7, 2010. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S004101011000108X>. Acesso em: 27 Jun. 2025.

WOOD, E. et al. Fenazaquin acaricide specific binding sites in NADH: ubiquinone oxidoreductase and apparently the ATP synthase stalk. *Pestic Biochem Phys*, 1996. Acesso em: 17 Jun. 2025.

XIMÉNEZ-EMBÓN, M. G. et al. Drought stress in tomato increases the performance of adapted and non-adapted strains of *Tetranychus urticae*. *Journal Of Insect Physiology*, v. 96, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0022191016301238>. Acesso em: 17 Ago. 2025.

ZHANG, Z. Q. *Mites of Greenhouses: Identification, Biology, and Control*. CABI; 2003. Disponível em: <https://books.google.com.br/books?hl=pt-BR&lr=&id=zVaSCyiK540C&oi=fnd&pg=PR9&dq=Zhang>. Acesso em: 27 Jun. 2025.

Agradecimentos

À Fundação de Amparo à Pesquisa 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.