

DIFERENTES TEMPOS DE ARMAZENAMENTO DO EXTRATO ENZIMÁTICO À BASE DE *Metarhizium anisopliae* SOBRE O ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS

Gustavo Pazolini Stein, Maria Julia Pazulini Santos, Kristielen Jeniffer Abreu Mageste, Valéria Polese, Selma Garcia Holtz, Patricia Soares Furno Fontes, Anderson Mathias Holtz

Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Distrito de Itapina
Zona Rural, ES, Brasil, gustavo.stein@estudante.ifes.edu.br, majupazulini@gmail.com,
krisjeniffermageste@outlook.com, valeria.polese@ifes.edu.br, selma.holtz@ifes.edu.br,
patricia.fontes@ifes.edu.br, anderson.holtz@ifes.edu.br

Resumo

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Prostigmata: Tenuipalpidae) é uma praga invasora de grande importância agrícola, associada a perdas significativas na produtividade de coqueiros e outras palmeiras (Carrillo *et al.*, 2012; Barroso, 2019). O controle químico é limitado e carece de produtos registrados, o que reforça a necessidade de alternativas biológicas. Neste estudo, avaliou-se a atividade acaricida de extratos enzimáticos produzidos por *Metarhizium anisopliae* em diferentes tempos de armazenamento (0 a 49 dias) sobre fêmeas adultos de *R. indica*. Os bioensaios foram conduzidos em condições laboratoriais controladas, e a mortalidade dos ácaros foi analisada por meio de ANOVA e teste de Tukey. Os resultados demonstraram mortalidade superior a 90% em todos os períodos avaliados, sem diferenças estatisticamente significativas entre os tempos de armazenamento. A estabilidade do extrato evidencia seu potencial como ferramenta promissora no manejo alternativo de *R. indica*, apresentando vantagens em relação ao uso de conídios viáveis, que podem perder eficiência ao longo do tempo (Oliveira *et al.*, 2016).

Palavras-chave Bioacaricida. Controle alternativo. *Raoiella indica*.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônômica – Agronomia

Introdução

O ácaro vermelho das palmeiras, *Raoiella indica* (Hirst, 1924) (Prostigmata: Tenuipalpidae), é uma espécie invasiva e de ataque severo, sendo considerado uma das principais pragas do coqueiro (*Cocos nucifera* L.). Devido seu comportamento polífago esse ácaro também ataca outras palmeiras, bem como bananeiras, sendo atualmente relatado infestando cerca de 100 espécies, principalmente espécies monocotiledôneas da família Aracaceae (Barroso, 2019; Sousa Neto *et al.*, 2021). Ao alimentar-se do tecido das folhas esse ácaro reduz o potencial fotossintético da planta podendo levar hospedeiros jovens à morte, além de reduzir significativamente a produtividade de plantas adultas (Carrillo *et al.*, 2012).

Todavia, devido a importância agrícola e a escassez de produtos registrados para o manejo desse ácaro, métodos alternativos, como extratos botânicos e controle biológico a base de ácaros predadores e microrganismos entomopatogênicos são promissores, visto que apresentam eficiência no controle de espécies de ácaros pragas (Fernández *et al.*, 2016; Coelho *et al.*, 2020; Freitas *et al.*, 2021).

O uso de bioacaricidas à base de fungos entomopatogênicos é relatada ao longo da história apresentando alta taxa de virulência sobre pragas e baixa ou nenhuma toxicidade aos seres humanos e ao ambiente, apresentando atividade inseticida e acaricida sobre diferentes pragas agrícolas, como a broca da bananeira (Almeida *et al.*, 2021), cochonilhas (Borghi *et al.*, 2019), ácaro rajado (Moro *et al.*, 2020), lepidópteros pragas de algodão e soja (Andrade & Rangel, 2021) entre outras. A virulência dos fungos entomopatogênicos se correlaciona à secreção de enzimas catalisadoras da degradação de estruturas dos hospedeiros durante o processo de penetração e infecção (Junior & Guarus, 2011).

Diante disso, formulações de enzimas e metabólitos secretados por fungos entomopatogênicos são vantajosos por não dependerem da sobrevivência do fungo no ambiente, atuando diretamente sobre o organismo alvo. Contudo, há poucos estudos sobre a toxicidade dos extratos enzimáticos sobre insetos e ácaros-praga, sendo necessárias pesquisas sobre essa tecnologia.

Portanto, objetivou-se avaliar neste projeto o desenvolvimento de um bioacaricida enzimático a partir de *Metarhizium anisopliae* para o manejo de *R. indica* em condições de laboratório, bem como a avaliação do efeito do extrato enzimático sobre *R. indica* em diferentes tempos de armazenamento.

Metodologia

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

A manutenção da criação consistiu 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.

Conídios de *M. anisopliae* foram obtidos do produto comercial Metarril®. Os conídios foram ressuspensos em água destilada estéril para preparação da suspensão de esporos. O fungo *M. anisopliae* foi cultivado por meio de fermentação em estado sólido com o objetivo de obter o extrato enzimático. O processo de cultivo foi realizado em BOD, sob temperatura controlada de 28 ± 1 °C, umidade relativa de $70\% \pm 10$ e em condições de escuridão contínua por 24 horas, ao longo de sete dias. Após esse período de fermentação, foi adicionada água destilada aos frascos na proporção de 1:10 (p/v), favorecendo a liberação das enzimas produzidas. Posteriormente, o material foi submetido à centrifugação e o sobrenadante foi coletado, sendo este utilizado como extrato enzimático.

Montagem das unidades experimentais

As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 x 1,2 cm), contendo algodão umedecido com água destilada sobreposta com folíolos de coqueiro com cerca de 6 cm comprimento, 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), dessa forma foi obtido indivíduos com idade e fase de desenvolvimento padronizada. Após esse período 10 adultos de *R. indica* foram transferidos para arena, montada conforme descrito anteriormente. Foram montadas por semana 10 arenas com 10 adultos de *R. indica* mais a testemunha, a concentração aplicada foi de 100%. 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.

Bioensaios

Foram realizadas as aplicações semanalmente de acordo com o tempo de armazenamento que foi de 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias. As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 x 1,2 cm), contendo algodão umedecido com água destilada sobreposta com folíolo com cerca de 6 cm de comprimento, delimitados 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.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

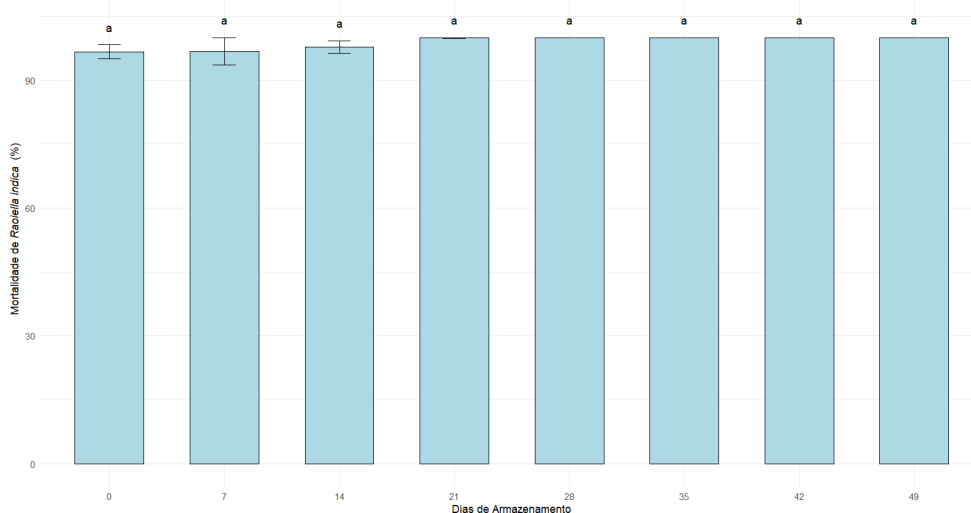
A pulverização foi realizada utilizando um aerógrafo modelo Alfa 2, conectado a um compressor calibrado com pressão constante de 1.3 bar e 1 mL de solução para cada repetição. Um grupo de controle foi utilizado usando somente água. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas à temperatura 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. Foi calculada a mortalidade corrigida em relação à testemunha pela fórmula de Abbott (1925). Os dados foram submetidos a análise de variância e ao teste de Tukey a 1 e 5% de significância.

Resultados

Os resultados demonstraram que o extrato enzimático à base de *Metarhizium anisopliae* manteve elevada eficiência acaricida sobre fêmeas adultas de *Raoiella indica* em todos os tempos de armazenamento avaliados (0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 e 49 dias), com mortalidade média superior a 90%. 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 1).

Figura 1. Mortalidade de *Raoiella indica* em diferentes tempos de armazenamento.



Fonte: Autores

Esse resultado demonstra a estabilidade do extrato enzimático durante o período de armazenamento, garantindo manutenção da atividade acaricida mesmo após 49 dias. Estudos prévios relatam que enzimas extracelulares produzidas por fungos entomopatogênicos, como proteases, quitinases e lipases, possuem papel fundamental na penetração e degradação da cutícula de artrópodes, contribuindo para a mortalidade de pragas (Schrank & Vainstein, 2010; Kim et al., 2010). Resultados semelhantes foram observados por Ali et al. (2014) e Soares et al. (2015), que verificaram a ação tóxica de enzimas produzidas por fungos sobre insetos e nematoides, respectivamente.

Discussão

A estabilidade observada no extrato enzimático evidencia seu potencial como bioacaricida de longo prazo. Diferentemente de formulações baseadas em conídios viáveis, que podem perder eficiência devido à redução da viabilidade ao longo do tempo por fatores ambientais como radiação e temperatura (OLIVEIRA et al., 2016), os extratos enzimáticos mantêm sua atividade por não dependerem do desenvolvimento do fungo no ambiente.

Estudos anteriores demonstram que enzimas extracelulares produzidas por fungos entomopatogênicos, como proteases, quitinases e lipases, desempenham papel essencial na

degradação da cutícula de artrópodes, contribuindo para a mortalidade das pragas (SCHRANK; VAINSTEIN, 2010; KIM et al., 2010). Resultados semelhantes foram relatados por Ali et al. (2014) e Soares et al. (2015), que observaram ação tóxica de extratos enzimáticos sobre insetos e nematoides. Além disso, a manutenção da eficiência do extrato amplia sua viabilidade como tecnologia de manejo, permitindo maior flexibilidade de uso em campo. Embora os resultados laboratoriais sejam promissores, estudos futuros devem avaliar sua performance em condições de campo e sua compatibilidade com outros métodos de controle biológico, buscando integração em programas de manejo integrado de pragas (MIP)

Conclusão

O extrato enzimático produzido a partir de *M. anisopliae* demonstrou alta eficiência acaricida contra *R. indica*, mantendo mortalidade superior a 90% durante até 49 dias de armazenamento. A ausência de diferenças estatísticas entre os tratamentos reforça sua estabilidade e potencial como alternativa viável para o manejo dessa praga. Esses resultados abrem perspectivas para o uso do extrato em formulações comerciais e para sua aplicação em programas de manejo integrado, reduzindo a dependência de defensivos químicos e contribuindo para práticas agrícolas mais sustentáveis.

Referências

ABDELRAHEEM, Eman MM et al. Biocatalysis explained: from pharmaceutical to bulk chemical production. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 11, p. 1878-1894, 2019.

ALI, S., REN, S., & HUANG, Z. (2014). Extracellular lipase of an entomopathogenic fungus effecting larva of a scale insect. **Journal of Basic Microbiology**, 54(11), 1148–1159. <https://doi.org/10.1002/jobm.201300813>

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

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>.

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.

BORGHI, E. J. A. et al. Utilização de fungos entomopatogênicos no controle da cochonilha- da-roseta em cultivos de café conilon. **X Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil**, 2019. Disponível em: <http://www.consorciopesquisacafe.com.br/ojs/index.php/SimposioCafe2019/article/view/70>.

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>.

COELHO, C. R. et al. Eficiência de tres especies de ácaros depredadores (Acari: Phytoseiidae) para el control de *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae). *Revista de Protección Vegetal*, v. 35, n. 1, 2020. Disponível em: http://scielo.sld.cu/scielo.php?pid=S1010-27522020000100005&script=sci_arttext.

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.](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105776)

FREITAS, G. S. et al. O potencial de *Beauveria bassiana* no controle de *Raoiella indica* (Acari: Tenuipalpidae) e sua compatibilidade com ácaros predadores. *Crop Protection*, v. 149, p. 105776, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2021.105776>.

JUNIOR, M. E.; GUARUS, I. F. F. Controle biológico de insetos pragas. I **SEMINÁRIO MOSAICO: OLHARES SOBRE O AMBIENTE**. 2011. Disponível em:

https://www.researchgate.net/profile/Milton-Erthal-2/publication/277129057/Controle_biologico_de_insetos_pragas/links/592877b8458515e3d4662/Controle-biologico-de-insetos-pragas.pdf [6a1](#)

KIM, J.; JE, Yeon Ho. A novel biopesticide production: attagel mediated precipitation of chitinase from *Beauveria bassiana* SFB-205 supernatant for thermotolerance. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 87, n. 5, p. 1639-1648, 2010.

OLIVEIRA, J. V. C. et al. Tolerância ao estresse e virulência de fungos entomopatogênicos determinados pelas condições ambientais durante a formação dos conídios. *Current Genetics*, v. 61, n. 3, p. 383-404, 2016.

SCHRANK, A.; VAINSTEIN, M. H. *Metarhizium anisopliae* enzymes and toxins. *Toxicon*, v. 56, p. 1267-1274, 2010.

SOARES, F. E. F. et al. Nematicidal action of chitinases produced by the fungus *Monacrosporium thaumasium* under laboratorial conditions. *Biocontrol Science and Technology*, v. 25, n. 3, p. 337-344, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1080/09583157.2014.979133>.

SOUSA NETO, E. P. et al. *Copernicia prunifera* (Miller) HE Moore (Arecaceae), uma nova hospedeira de *Raoiella indica* Hirst, 1924 (Acari: Tenuipalpidae). *Comunicações Entomológicas*, v. 3, p. ec03045, 2021. DOI: <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec03045>.

Agradecimentos

A 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.