

TEMPOS DE PRATELEIRA DO EXTRATO À BASE DE *Beauveria bassiana* NO CONTROLE DO ÁCARO VERMELHO DAS PALMEIRAS

Thiago Nieiro Cuzzuol¹, Eduarda Carriço¹, Irany Rodrigues Pretti¹, Caio Henrique Binda de Assis², Selma Garcia Holtz¹, Ronilda Lana Aguiar¹, Anderson Mathias Holtz¹.

¹Instituto Federal do Espírito Santo – Campus Itapina, Rodovia BR 259 - KM 70 - Distrito de Itapina Zona Rural, ES, Brasil, thiagonieiroc12@gmail.com, eduardacarrico41603@gmail.com, iranyrpretti@gmail.com, selma.holtz@ifes.edu.br, ronilda.aguiar@ifes.edu.br, anderson.holtz@ifes.edu.br.

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

Resumo

O ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), é considerado um problema nos cultivos de hortícolas e na fruticultura. O controle deste ácaro é predominantemente feito com o uso de produtos químicos sintéticos. Entretanto, a utilização de metabólitos microbianos tem se mostrado promissora no controle de pragas agrícolas. Diante disso, objetivou-se avaliar o efeito do extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos de armazenamento, para manejo do ácaro rajado. O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia do IFES Campus Itapina. Estabeleceu-se uma criação do ácaro em laboratório. Para o extrato, conídios de *B. bassiana* foram obtidos do produto comercial Boveril® e cultivados em meio sólido. O tempo de prateleira foi avaliado por 7 semanas por meio de testes semanais. Os diferentes tempos de armazenamento do extrato não interferiram na mortalidade dos ácaros, apresentando valores estatisticamente iguais em todas as semanas, indicando que o tempo não comprometeu a atividade bioacaricida do extrato, mantendo suas propriedades biológicas ao longo do período analisado.

Palavras-chave: *Raoiella indica*. Controle biológico. Fungos entomopatogênicos. Enzimas extracelulares.

Área do Conhecimento: Engenharia agrônoma - Agronomia.

Introdução

O ácaro-rajado, *Tetranychus urticae* Koch, 1836 (Acari: Tetranychidae), é considerado um problema nos cultivos de hortícolas e na fruticultura do Espírito Santo, como por exemplo, a cultura do morango e mamão. Nas plantas atacadas os ácaros estabelecem colônias densas e formam teias nas folhas, principalmente na face abaxial. O ácaro perfura as células da epiderme foliar e se alimenta do conteúdo celular extravasado, o que causa manchas cloróticas que se espalham pelo limbo foliar e se tornam amareladas e bronzeadas que podem promover a perda de folhas e, em condições mais críticas, a morte da planta (Wurlitzer *et al.*, 2021).

Geralmente, o controle do ácaro-rajado é predominantemente feito com o uso de produtos químicos sintéticos (Agrofit, 2025). Porém, devido ao ciclo de vida rápido do ácaro-rajado e a ocorrência de populações numerosas, bem como o uso indiscriminado de agrotóxicos, a resistência a acaricidas é rapidamente induzida. É relatada a resistência desse ácaro a cerca de 90 princípios ativos de produtos químicos sintéticos em mais de 80 países, incluindo o Brasil. Devido a esta situação, ressalta-se a necessidade de buscar alternativas ao controle químico sintético do ácaro rajado, por meio de produtos naturais e biológicos com ação acaricida (Hauschild; Silva, 2020).

O manejo de ácaros-praga por meio da utilização de metabólitos microbianos ainda é incipiente. No ato de infecção de um inseto e/ou ácaro por um fungo, a maior dificuldade enfrentada é a penetração da cutícula protetora. Composta principalmente por quitina, é um polissacarídeo nitrogenado formado por monômeros de Nacetilglicosamina, escleroproteínas, que se depositam sobre a quitina e revestimentos lipídicos formando uma camada densa e dura (Varéa *et al.*, 2012). No campo, o processo de infecção é geralmente lento e condicionado a fatores ambientais, como temperatura e umidade, nesse sentido, a utilização de metabólitos produzidos por fungos surge como alternativa, visto que sua ação no campo tende a ser mais rápida quando comparado a aplicação dos esporos.

Por ser uma tecnologia sustentável e eficiente, a biocatálise enzimática é listada como uma das mais promissoras, já sendo aplicada de forma extensiva em processos biotecnológicos, farmacêuticos e industriais (Abdelraheem *et al.*, 2019). Dada a importância econômica das culturas agrícolas atacadas por esse ácaro, objetivou-se avaliar o efeito acaricida do extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*, em diferentes tempos de armazenamento, para manejo do ácaro rajado em condições de laboratório.

Metodologia

Localidade do sítio de pesquisa

O experimento foi realizado no Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola e no complexo de laboratórios do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Espírito Santo - *Campus Itapina* (IFES- *Campus Itapina*), localizado no município de Colatina, com coordenadas de 19°29'52.7" S 40°45'38.5"W.

Criação e manutenção do ácaro rajado (*T. urticae*)

Para a infestação inicial, folíolos infestados com o ácaro-rajado foram colocados em contato com mudas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*), permitindo a migração dos indivíduos para essas plantas. A manutenção da criação consistiu nos cuidados com as mudas de feijão, com atenção à irrigação e à exposição regular ao sol. Além disso, observou-se continuamente as condições das plantas. Quando as mudas atingiam um alto grau de infestação ou apresentavam condições inadequadas (com grande parte da área vegetal necrosada), os indivíduos eram redistribuídos para novas mudas.

Montagem das unidades experimentais

As unidades experimentais foram compostas por placas de Petri (10,0 × 1,2 cm) contendo algodão umedecido com água destilada, sobre o qual foram posicionados discos de folhas de feijão-de-porco (*Canavalia ensiformis*) com aproximadamente 4 cm de diâmetro. Os discos foliares foram delimitados por tiras de algodão umedecido, com o objetivo de manter a turgescência da folha e impedir a fuga dos ácaros. As arenas foram mantidas em câmaras climatizadas do tipo B.O.D., sob temperatura de 25 ± 1 °C, umidade relativa de 70 ± 10% e fotofase de 12 horas.

Após esse período, os adultos foram removidos e os ovos permaneceram sob condições adequadas por aproximadamente 20 a 25 dias, tempo necessário para a conclusão da fase imatura da espécie (ovo a adulto). Dessa forma, obtiveram-se indivíduos com idade e fase de desenvolvimento padronizadas. Em seguida, 10 ácaros adultos de *T. urticae* foram transferidos para cada arena, previamente montada conforme descrito. Os tratamentos foram realizados com extrato enzimático armazenado por diferentes períodos, seguindo a ordem cronológica de 0, 7, 14, 21, 28, 35, 42 dias após o preparo da solução. A ocorrência de eventual mortalidade decorrente do processo de transferência foi verificada durante um período de 2 horas, realizando-se a reposição dos espécimes mortos antes do início da aplicação dos bioacaricidas.

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. As unidades experimentais foram mantidas em câmaras climatizadas à temperatura de 25 ± 1° C, umidade relativa 70 % ± 10 e fotofase de 12 h.

Produção enzimática

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.

A partir das culturas puras obtidas, realizou-se a inoculação em tubos de ensaio inclinados contendo meio batata-dextrose-ágar (BDA). Após o crescimento micelial, os conídios foram novamente ressuspensos. Uma alíquota dessa suspensão foi transferida para frascos Erlenmeyer (125 mL) contendo arroz polido previamente esterilizado, com o objetivo de estimular a esporulação do fungo.

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

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

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 incubação, foi adicionada água destilada estéril aos frascos na proporção de 1:10 (m/v), visando a extração das enzimas extracelulares secretadas pelo fungo. O conteúdo foi homogeneizado, centrifugado, e o sobrenadante coletado, sendo este considerado o extrato enzimático (solução-mãe).

Análise estatística

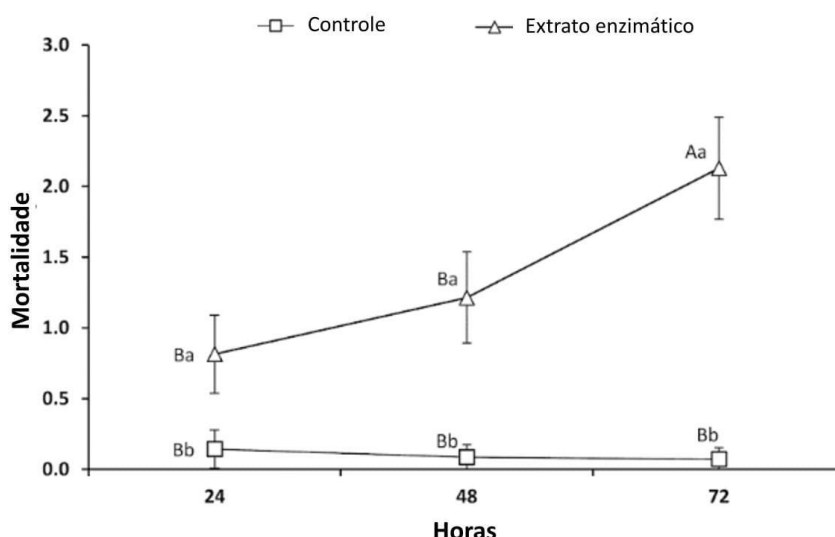
O efeito dos tempos de armazenamento do extrato e a eficácia na mortalidade dos ácaros foi avaliado com um modelo linear de efeitos mistos (linear mixed-effects model - LME), tendo tratamento, tempo de exposição e semanas como fatores fixos e indivíduos como fator aleatório. Os contrastes entre os tratamentos foram avaliados com a função emmeans do pacote de mesmo nome (Lenth, 2023). Todas as análises estatísticas foram realizadas utilizando o software R, versão 4.3.2 (R Core Team, 2023).

Resultados

A mortalidade de *T. urticae* foi significativamente influenciada pela interação entre os tratamentos e o tempo de exposição (Fig. 1, modelo linear de efeitos mistos, LME: L.R. = 55,2; gl = 1; $p < 0,0001$), enquanto a interação com as diferentes semanas não foi significativa (Fig. 2). A mortalidade no tratamento com extrato enzimático foi significativamente maior que no controle em todos os tempos de exposição avaliados (24, 48 e 72 horas).

No tratamento controle, não houve diferença significativa entre os diferentes tempos de exposição, enquanto no tratamento com extrato enzimático, a mortalidade após 72 horas foi significativamente superior às dos demais tempos, que não diferiram entre si (Fig. 1).

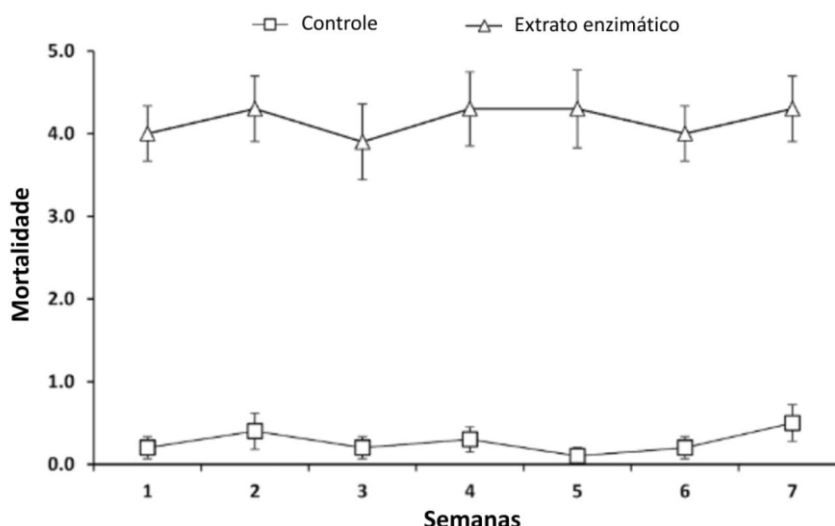
Figura 1: Mortalidade de *Tetranychus urticae* em função do tempo após aplicação de extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*. Letras maiúsculas indicam diferenças entre o tempo de exposição dentro de cada tratamento. Letras minúsculas indicam diferenças entre os tratamentos em cada tempo (contrastes após lme, $p < 0,05$).



Fonte: Autor próprio.

Figura 2 – Mortalidade de *Tetranychus urticae* em função do tempo de armazenamento do extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*. Não houve efeito significativo das diferentes semanas na mortalidade de *Tetranychus urticae*.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO



Fonte: Autor próprio.

Discussão

O controle biológico de pragas consiste na manipulação de inimigos naturais, com intuito de manter a população da praga abaixo do nível de controle (Parra *et al.*, 2018). Diante disso, para que uma bioformulação seja eficaz, é essencial que ela apresente atividade antimicrobiana mesmo em baixas concentrações, seja resistente a condições ambientais desfavoráveis, não contenha substâncias tóxicas, exerça efeitos neutros ou benéficos sobre o organismo-alvo, tenha baixo custo de produção, além de apresentar boa estabilidade e tempo de prateleira adequado (Sharma *et al.*, 2009; Gotor-Vila *et al.*, 2017; Miljaković *et al.*, 2020; Russi, 2024). Nesse contexto, a mortalidade observada de *T. urticae* pode estar relacionada à ação de enzimas extracelulares produzidas pelo fungo entomopatogênico.

Resultados semelhantes aos observados no presente trabalho, quanto à eficácia do extrato, foram relatados por Bernabé *et al.* (2024), ao avaliarem o efeito de um extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana*, em diferentes concentrações, sobre *T. urticae*. Concentrações mais elevadas demonstraram maior eficiência na mortalidade dos ácaros, possivelmente devido à maior quantidade de enzimas presentes por volume aplicado, o que pode ter acelerado processos como a intoxicação dos indivíduos.

Esse efeito pode ser explicado pela dinâmica de atuação das enzimas durante o processo de infecção. Logo após a aderência do esporo à cutícula do inseto, as lipases são as primeiras enzimas a serem sintetizadas. Essas enzimas atuam na quebra de lipídios e lipoproteínas presentes na epicutícula, além de favorecerem a fixação dos esporos em germinação ao intensificarem as interações hidrofóbicas entre o fungo e a superfície cuticular. Com o avanço do processo infeccioso, ocorre o aumento na produção de proteases (Wiermann, 2022; Stein *et al.*, 2024).

As proteases, por exemplo, estão entre os principais determinantes de patogenicidade e virulência em fungos entomopatogênicos (Litwin *et al.*, 2020). Estudos apontam que essas enzimas não apenas participam da degradação da cutícula do hospedeiro, mas também exercem efeitos tóxicos diretos sobre esses organismos. Elas podem interferir em múltiplas funções fisiológicas e comprometer os mecanismos imunológicos, levando à mortalidade ou à inibição das respostas naturais de defesa (Zibae; Ramzi, 2018; Litwin *et al.*, 2020; Carriço *et al.*, 2024).

Além disso, o extrato utilizado é caracterizado como um método de controle biológico, uma vez que não passa por processos de esterilização, permitindo a presença de estruturas viáveis, como esporos, que também podem contribuir para o manejo da praga. Entre os mecanismos de infecção fúngica, além da liberação de compostos durante as fases de adesão e penetração, destaca-se a infecção direta por meio da germinação do esporo sobre a cutícula do inseto. As hifas podem ser introduzidas no hospedeiro tanto pela ruptura do exoesqueleto, causada pela pressão de crescimento do micélio, quanto por vias naturais de entrada, como os espiráculos, ânus, sifão respiratório, tarso e membranas intersegmentares do abdome do artrópode (Valadares-Ingilis; Lopes; Faria, 2019; Sujii *et al.*, 2020).

Conclusão

Os diferentes tempos de armazenamento do extrato enzimático à base de *Beauveria bassiana* não interferiram na mortalidade dos ácaros, apresentando valores estatisticamente iguais em todas as semanas, o que indica que o tempo de prateleira não comprometeu a atividade bioacaricida do extrato, mantendo suas propriedades biológicas ao longo do período analisado.

Referências

- ABDELRAHEEM, E. M. M. *et al.* Biocatalysis explained: from pharmaceutical to bulk chemical production. **Reaction Chemistry & Engineering**, v. 4, n. 11, p. 1878–1894, 2019.
- AGROFIT. Sistema de agrotóxicos fitossanitários. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento – Coordenadoria Geral de Agrotóxicos e Afins/DFIA/DAS. Disponível em: http://agrofit.agricultura.gov.br/agrofit_cons/principal_agrofit_cons. Acesso em: 28 jun. 2025.
- BERNABÉ, A. C. B.; *et al.* Bioacaricida enzimático à base de *Beauveria bassiana* no manejo do ácaro rajado. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (INIC), 28., 2024, São José dos Campos, SP. Anais... São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2024. Acesso em: 28 jun. 2025.
- CARRIÇO, E.; *et al.* *Beauveria bassiana* como bioacaricida: efeitos sobre a *Raoiella indica* em diferentes dosagens. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (INIC), 28., 2024, São José dos Campos, SP. Anais... São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2024. Acesso em: 28 jun. 2025.
- GOTOR-VILA, A.; USALL, J.; TORRES, R.; ABADIAS, M.; TEIXIDO, N. Formulation of the biocontrol agent *Bacillus amyloliquefaciens* CPA-8 using different approaches: liquid, freeze-drying and fluid-bed spray-drying. **BioControl**, v. 62, p. 545-555, 2017.
- HAUSCHILD, R.; OTT, A.; DA SILVA, M. A. S. Ação fumigante de óleos essenciais de *Baccharis dracunculifolia* e *Elionurus muticus* contra o ácaro-rajado (*Tetranychus urticae*, Koch 1836) em morangueiro. **Cadernos de Agroecologia**, v. 15, n. 2, 2020.
- LITWIN, A.; NOWAK, M.; RÓŻALSKA, S. Fungos entomopatogênicos: aplicações não convencionais. **Resenhas em Ciência Ambiental e BioTecnologia**, v. 1, p. 23-42, 2020. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11157-020-09525-1>. Acesso em: 29 jun. 2025.
- MILJAKOVIĆ, D.; MARINKOVIĆ, J.; BALEŠEVIĆ-TUBIĆ, S. The significance of *Bacillus* spp. in disease suppression and growth promotion of field and vegetable crops. **Microorganisms**, v. 8, n. 7, p. 1037, 2020.
- PARRA, J. R. P. Controle biológico na agricultura brasileira. **Entomological Communications**, v. 1, p. 2675–1305, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.37486/2675-1305.ec01002>. Acesso em: 29 jun. 2022.
- RUSSI, Alessandra. **Desenvolvimento de bioformulações contendo endósporos de *Bacillus velezensis* S26 para controle biológico de doenças e promoção do crescimento vegetal**. 2024. Tese (Doutorado) — Universidade de Caxias do Sul, Caxias do Sul, 2024. Disponível em: <https://repositorio.ucs.br/11338/13170>. Acesso em: 29 jun. 2025.

A Ciência do NANO e seu impacto transformador no MACRO

STEIN, G. P.; *et al.* Bioacaricida de extratos enzimáticos de *Beauveria bassiana* no controle de *Oligonychus ilicis*. In: ENCONTRO LATINO-AMERICANO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA (INIC), 28., 2024, São José dos Campos, SP. Anais... São José dos Campos: Universidade do Vale do Paraíba, 2024.

SUJII, E. R. *et al.* Relações ecológicas no controle biológico. **Embrapa**, n. 1, p. 45–62, 2020. Disponível em: <http://dspace.unisa.br/handle/123456789/616>. Acesso em: 29 jun. 2025.

VALADARES-INGLIS, M.; LOPES, R.B.; FARIA, R.M. Controle de artrópodes-praga com fungos entomopatogênicos. In: Controle Biológico de Pragas na Agricultura - **Embrapa**. 201-236, 2020. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/212490/1/CBdocument.pdf>. Acesso em: 29 jun. 2025.

VARÉA, G. S. *et al.* Identificação de proteases produzidas pelo fungo entomopatogênico *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. cepa CG432 previamente ativada em insetos vivos de broca-do-café (*Hypothenemus hampei*). **Semina: Ciências Agrárias**, v. 33, supl. 2, p. 3055–3068, 2012. Disponível em: <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2012v33Supl2p3055>. Acesso em: 28 jun. 2025.

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>.

WURLITZER, W. B. *et al.* *Tetranychus urticae* (Koch, 1836) em cultivo de lúpulo *Humulus lupulus* L. (Cannabaceae) no Rio Grande do Sul, Brasil – primeiro relato de ocorrência. **Entomological Communications**, v. 3, p. ec03025, 2021.

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, p. 779-794, 2018. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/03235408.2018.1519875>. Acesso em: 29 jun. 2025.

Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPQ). À Fundação de Amparo à Pesquisa e Inovação do Espírito Santo (FAPES). Ao Instituto Federal do Espírito Santo - Itapina e ao Complexo de Laboratórios e Laboratório de Entomologia e Acarologia Agrícola do IFES - Campus Itapina pelo apoio a esta pesquisa.